

Національна академія наук України
Національна академія аграрних наук України
Національна академія медичних наук України
Українське товариство генетиків і селекціонерів
ім. М.І. Вавилова

ДОСЯГНЕННЯ І ПРОБЛЕМИ ГЕНЕТИКИ, СЕЛЕКЦІЇ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ
ГЕНЕТИКИ, СЕЛЕКЦИИ
И БИОТЕХНОЛОГИИ

ACHIEVEMENTS AND PROBLEMS
OF GENETICS, BREEDING
AND BIOTECHNOLOGY

*Збірник наукових праць
IX з'їзду УТГіС*

ТОМ 3

***Присвячено:
100-річчю від дня народження Й. А. Рапопорта***

Київ
ЛОГОС — 2012

ББК 28.04я43

Д70

УДК 578.08+631.52

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Кунах В.А.— д-р біол. наук, чл.-кор. НАНУ (головний редактор); Дубровна О.В.— д-р біол. наук (заст.головного редактора); Блюм Я.Б.— д-р біол. наук, академік НАНУ; Вагіна І.М.— канд. біол. наук; Єльська Г.В., д-р біол. наук, академік НАНУ; Кучук М.В.— д-р біол. наук, чл.-кор. НАНУ; Лялько І.І.— канд. біол. наук; Лукаш Л.Л.— д-р біол. наук; Малиута С.С.— д-р біол. наук, чл.-кор. НАНУ; Михайлов В.Г.— д-р с.-г. наук, чл.-кор. НААНУ; Моргун В.В.— д-р біол. наук, академік НАНУ; Сиволап Ю.М.— д-р біол. наук, академік НААНУ; Созінов О.О.— д-р біол. наук, академік НАНУ

*Затверджено до друку рішенням вченої ради Інституту молекулярної біології
і генетики НАН України (протокол № 2 від 10 квітня 2012 р.)*

Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології:
Д70 зб. наук. пр. / НАН України, НААН України, НАМН України, Укр.
т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова; редкол.: В.А. Кунах
(голов. ред.) [та ін.].— К.: Логос, 2012.

Т. 3: Присвячено 100-річчю від дня народження Й. А. Рапопорта.—
2012.— 612 с.: іл.— укр., рос.— бібліогр. В кінці ст.
ISBN 978-966-171-576-6 (Т. 3).

У збірнику представлено наукові праці вітчизняних та зарубіжних спеціалістів, написані спеціально для даного видання, присвяченого 125-річчю від дня народження М.І.Вавилова. В оглядових, теоретичних і експериментальних статтях наведено дані з основних напрямів генетики, селекції та біотехнології різних організмів (рослин, тварин, мікроорганізмів); загальної, молекулярної, біохімічної, медичної, екологічної генетики; результати аналізу та оцінки генетичних ресурсів. Висвітлено також актуальні питання використання ДНК-технологій і молекулярних маркерів у селекції рослин і тварин, генетики людини та медичної генетики.

Для спеціалістів у галузі генетики, селекції, біотехнології, екології, а також викладачів і студентів вищих навчальних закладів III-IV рівнів акредитації.

ББК 28.04я43+41.3я43

ISBN 978-966-171-567-6

© Українське товариство генетиків
і селекціонерів ім. М.І. Вавилова, 2012

АНДРЮШЕНКОВА З. П.

*Никитский ботанический сад — Национальный научный центр,
г. Ялта, ул. Мисхорская 1, e-mail: acimia@mail.ru*

НОВЫЕ СОРТА И ГИБРИДНЫЕ ФОРМЫ МЕЛКОЦВЕТКОВОЙ ХРИЗАНТЕМЫ НИКИТСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА

Мелкоцветковая хризантема — культура, обладающая высокой декоративностью, имеющая неограниченные возможности использования в озеленении, а также на срез и в качестве горшечной культуры в любое время года. Это одна из самых любимых и популярных цветочных культур наряду с розами, гвоздиками, лилиями занимает ведущее место в мировом производстве срезки и представлена на рынке огромным количеством разнообразных сортов.

Никитский ботанический сад активно вел селекционную работу по хризантеме в 30–40 гг. прошлого века. Но пик создания новых сортов пришелся на 50–60 годы прошлого века. Неоценимый вклад в создание сортов мелкоцветковой хризантемы в разные годы внесли сотрудники Никитского сада: В. М. Бабкина, И. А. Забелин, Г. Ф. Феофилова, Т. А. Шолохова. Некоторые сорта, созданные ими, до сих пор украшают нашу ежегодную осеннюю выставку хризантем.

Необыкновенно богата гамма окрасок соцветий: все оттенки желтого, оранжево-красного и почти коричневого, холодные и теплые розовые, лиловые, сиреневые, есть двухцветные. Пожалуй, пока нет только чисто-голубых и синих сортов.

С 2005 года сотрудниками Никитского ботанического сада было получено более 300 гибридных форм мелкоцветковой хризантемы. Материал для селекции получали при использовании свободного опыления между растениями избранных родительских сортов зарубежной и отечественной селекции. Каждый год высевали до 3 тысяч семян. В работе с хризантемой мелкоцветковой использовали различные типы отбора. В первый год вегетации среди семенного потомства применяли индивидуальный отбор по декоративным признакам. Преимущество отдавали растениям с эффективной окраской, диаметр, форма соцветий, форма цветков, число листьев, количество соцветий, крупными, мелкими, многочисленными соцветиями, с ранним и продолжительным цветением, высотой куста. Определяли листовый индекс (отношение длины к ширине), форму куста у мелкоцветковых (рыхлая, компактная). При оценке биолого-хозяйственных показателей учитывали период цветения, коэффициент размножения, устойчивость к неблагоприятным условиям, болезням и вредителям.

Окончательная оценка проводилась на 2 и 3 год. В результате отборов и многочисленных отбраковок были оставлены для дальнейшего изучения более 100 перспективных гибридных форм. А 35 гибридных форм получили хорошие проходные баллы. На 5 сортов мелкоцветковых хризантем поданы заявочные документы на получение «Свідодство про реєстрацію сортів зразків генофонду рослин в Україні»; это такие сорта: А — 13–05 «Виктория», А — 22–05 (А) «Акимия», А — 22–05 (Б) «Сашенька», А — 24–06 «Солнышко», А — 18–06 «Нежность».

Хризантема мелкоцветковая «Акимия» (авторы: Андрюшенкова З. П., Мисюра А. В.).

Сорт выделен из семенного потомства сорта «Two Tone Pink».

Куст рыхлый, ажурный, округлой формы. Растение высотой 60–70 см. Диаметр куста 35–40 см. Стебель диаметром 0,4 см. Окраска стебля в начальных стадиях онтогенеза зеленая, при переходе в генеративную фазу появляется антоциановое окрашивание. Прочность стебля средняя, ломкость отсутствует. Крепление бокового побега к стеблю прочное. Угол между боковым побегом и стеблем 30°–35°. Количество листьев на кусте до 310. Нижние листья: длина 7,5 см, ширина 4,3 см. Верхние листья: длина 4 см, ширина 3 см. Листовой индекс 1,8. Окраска листа зеленая. Форма соцветия плоская полумахровая ромашка с двумя, тремя рядами язычковых цветков. Общее соцветие щитковидное. Одиночное соцветие (корзинка) диаметром 4–6 см. Высота корзинки от основания оберточных листочков составляет 1 см. Центральный диск открытый, желтого цвета. Наружные язычковые цветки длиной 2,8–3 см, шириной 0,8 см. Соцветие двухцветное. Основная язычковых цветков терракотового цвета, а остальная часть и края язычковых цветков ярко желтого цвета. Цветоносов на кусте 30 и больше. Количество соцветий на кусте от 200 до 210. Зимостойкость на Южном берегу Крыма 5 баллов. Начало цветения — III декада сентября. Продолжительность цветения 35–40 дней. Отмечена способность к половой репродукции. Декоративность сорта высокая, в октябре 2006 года отмечена 9,4 баллами. Выход черенков с одного маточного растения от 15 до 20 с одного однолетнего маточника. Продолжительность вегетационного периода 180–210 дней. Период от начала вегетации и до начала цветения 150–160 дней. Сорт воспроизводится верхушечными зелеными черенками. Рекомендуемые направления использования в зеленом строительстве — бордюры, группы, миксбордеры, массивы, в промышленном цветоводстве — горшечная культура.

Хризантема мелкоцветковая «Виктория» (авторы Андрюшенкова З. П., Мисюра А. В.).

Сорт выделен из семенного потомства сорта «Two Tone Pink».

Куст густо облиственный, округлой формы. Растение высотой 80–90 см. Требуется подвязки. Диаметр куста 45–50 см. Окраска стебля темно-зеленая. Прочность стебля средняя, ломкость отсутствует. Крепление бокового по-

бега к стеблю прочное. Угол между боковым побегом и стеблем 30°–35°. Количество листьев на кусте до 130. Нижние листья: длина 7–8 см, ширина 5–5,6 см. Верхние листья: длина 5 см, ширина 3 см. Листовой индекс 1,4–1,5. Окраска листа зеленая. Форма соцветия плоская махровая ромашка с 10–11 рядами язычковых цветков. Общее соцветие щитковидное. Одиночное соцветие (корзинка) диаметром 5–6 см. Длина язычковых цветков 5–7 см, ширина — 0,7 см. Сиренево-бело-розовая махровая ромашка. Кончики язычковых цветков белые. При распускании соцветие напоминает мини георгину, центральный диск при этом закрыт. К концу цветения диск открывается, желтого цвета. Высота корзинки от основания оберточных листочков составляет 1,5 см. Цветоносов на кусте до 16 и больше. Количество соцветий 50–60 и больше. Зимостойкость на Южном берегу Крыма 5 баллов. Начало цветения — П декада октября до заморозков. Продолжительность цветения до 50 дней. Отмечена способность к половой репродукции. Декоративность сорта высокая, в октябре 2006 года отмечена 8,9 баллами. Выход черенков с одного маточного растения от 16–25 за одну срезку с одного однолетнего маточника. Продолжительность вегетационного периода 180–250 дней. Период от начала вегетации и до начала цветения 160–180 дней. Сорт воспроизводится верхушечными зелеными черенками. Рекомендуемые направления использования в зеленом строительстве — группы, миксбордеры, массивы, в промышленном цветоводстве.

Хризантема мелкоцветковая «Сашенька» (авторы Андриюшенкова З. П., Мисюра А. В.)

Сорт выделен из семенного потомства сорта «Two Tone Pink».

Куст густо облиственный, плотный, колонновидной формы. Растение высотой 90–100 см. Требует подвязки. Диаметр куста 45–50 см. Окраска стебля в начальных стадиях онтогенеза зеленая, при переходе в генеративную фазу появляется антоциановое окрашивание. Прочность стебля средняя, ломкость отсутствует. Крепление бокового побега к стеблю прочное. Угол между боковым побегом и стеблем около 30°. Количество листьев на кусте до 200–210. Нижние листья: длина — 8–10 см, ширина 4–6 см. Верхние листья: длина 6 см, ширина — 2–3 см. Листовой индекс 2. Окраска листа зеленая. Форма соцветия плоская полумахровая ромашка с двумя рядами язычковых цветков. Соцветие двухцветное. От основания язычковых цветков до половины терракотового цвета, а остальная часть и края лепестков желтого цвета. Такое сочетание цвета очень гармоничное. Одиночное соцветие (корзинка) диаметром 4–6 см. Диск соцветия открыт, желтого цвета. Высота корзинки от основания оберточных листочков составляет 1 см. Цветоносов на кусте до 34. Количество соцветий на кусте до 150. Зимостойкость на Южном берегу Крыма 5 баллов. Начало цветения — первая декада октября. Продолжительность цветения — 35–40 дней и больше. Отмечена способность к половой репродукции. Декоративность сорта высокая, в октябре 2009 года отмечена 9,8 баллами. Хорошая устой-

чивость к болезням и вредителям. Выход черенков с одного маточного растения 25–30 за одну срезку с одного однолетнего маточника. Продолжительность вегетационного периода 190–200 дней. Период от начала вегетации и до начала цветения 150–160 дней. Рекомендуемые направления использования в зелёном строительстве — группы, бордюры, миксбордеры, массивы, в промышленном цветоводстве.

Хризантема мелкоцветковая «Солнышко» (авторы Андриюшенкова З. П., Мисюра А. В.).

Сорт выделен из семенного потомства сорта «Two Tone Pink».

Куст густо облиственный, плотный, раскидистой формы. Растение высотой 80–90 см. Требуется подвязки. Диаметр куста 45–50 см. Окраска стебля светло-коричневатая. Стебель диаметром 0,4 см. Прочность стебля средняя, ломкость отсутствует. Крепление бокового побега к стеблю прочное. Угол между боковым побегом и стеблем 25°–30°. Количество листьев на кусте от 150 до 170. Нижние листья: длина — 9,7–10 см, ширина — 5,9–6 см. Верхние листья: длина — 3,4 см, ширина 2,6 см. Листовой индекс 1,6. Окраска листа зелёная. Форма соцветия относится выпуклая, анемовидная (скабиозовидная) ромашка. В центре соцветия трубчатые цветки 2 см длиной, окраска светло-сиреневая, а концы трубчатых цветков имеют 5 зубчиков жёлтого цвета с десятью слоями трубчатых цветков. Окантовывают трубчатые цветки три слоя язычковых цветков жёлтого цвета. Одиночное соцветие (корзинка) диаметром 6,7–7 см. Длина лепестков язычковых крайних 0,3 см, ширина лепестков 0,6–0,8 см. Соцветие двухцветное. Центр жёлтого цвета, края язычковых цветков светло-жёлтого цвета с тонким запахом. Высота корзинки от основания обёрточных листочков составляет 1,4 см. Цветоносов на кусте до 25. Количество соцветий на кусте до 200. Зимостойкость на Южном берегу Крыма 5 баллов. Начало цветения — первая декада октября. Продолжительность цветения 50–60 дней. Декоративность сорта высокая, в октябре 2007 года отмечена 8,2 баллами. Хорошая устойчивость к болезням и вредителям. Выход черенков с одного маточного растения 20–25 за одну срезку с одного однолетнего маточника. Продолжительность вегетационного периода 200–210 дней. Период от начала вегетации до начала цветения 165–170 дней. Достаточная выравненность, высокая декоративность, продолжительное цветение, стойкость в срезке до 2,5 недель. Сорт «Солнышко» хорош для садово-парковых насаждений, при создании больших и малых групп, цветочных массивов, ценный материал для срезки в осенний период.

Хризантема мелкоцветковая «Нежность» (авторы Андриюшенкова З. П., Мисюра А. В.).

Сорт выделен из семенного потомства сорта «Two Tone Pink».

Куст густо облиственный, плотный, раскидистой формы. Растение высотой 90–100 см. Требуется подвязки. Диаметр куста 45 см. Окраска стебля

коричневого цвета. Стебель диаметром 0,4 см. Прочность стебля средняя, ломкость отсутствует. Крепление бокового побега к стеблю прочное. Угол между боковым побегом и стеблем около 30°. Количество листьев на кусте до 200. Нижние листья: длина — 9–10 см, ширина 5 см. Верхние листья 4,5 см, ширина 3 см. Листовой индекс 2. Окраска листа светло-зелёная, форма соцветия плоская, махровая ромашка с 12–15 слоями лентовидных лепестков, плотно прижатых друг к другу. Диск от начала распускания до конца цветения закрыт. В начале цветения соцветие белого цвета, затем к середине цветения центр соцветия приобретает светло-сиреневое окрашивание на солнце, а кончики лепестков светло-зелёного цвета. Поэтому декоративность соцветий сначала и до конца цветения только выигрывает. Одиночное соцветие (корзинка) диаметром 5,5–7 см. Длина лепестков 2 см. Ширина лепестков 0,6 см. Соцветие плотное и очень декоративное с приятным характерным запахом. Высота корзинки от основания обёрточных листочков составляет 1,5 см. Цветоносов на кусте до 20. Количество соцветий на кусте 180. Зимостойкость на Южном берегу Крыма 5 баллов. Начало цветения — П декада октября и до заморозков. Продолжительность цветения до 70 дней. Декоративность сорта высокая, в октябре 2008 года отмечена 9 баллами. Сорт устойчив к болезням и вредителям. Выход черенков с одного маточного растения 25–30 за одну срезку с одного однолетнего маточника. Продолжительность вегетационного периода 200–220 дней. Период от начала вегетации до начала цветения 150–170 дней. Стойкость в срезке до 3 недель. Сорт «Нежность» рекомендуется для использования в зеленом строительстве — группы, бордюры, миксбордеры, массивы, в промышленном цветоводстве.

В данный момент проходят проверку на коллекционном участке Никитского ботанического сада следующие гибридные формы хризантемы мелкоцветковой (будущие сорта). Такие как «Регина», «Павлина», «Айсберг», «Красотка», «Скопиночка», «Память сердца», «Аркадия», «Сиреневая мелодия», «Серенада», «Эмели», «Милитина», «Христиан Стевен», «Securitas Augum», «Рыжик», «Артемон». У многих гибридов пока только селекционные номера. Все они очень декоративны. И с каждым годом гибридные формы (отборов) становятся все больше.

В дальнейшем с расширением работ по интродукции хризантем больше возможности появляется для использования их в селекционных программах с целью создания высокодекоративных мелкоцветковых сортов ранних сроков цветения в открытом грунте. Южный берег Крыма идеально подходит для ведения работ по селекции мелкоцветковой хризантемы. Хризантема цветет очень продолжительно вплоть до морозов. Бывают годы, когда морозы на Южный берег приходят только в январе, а то и позже. В это время они нас радуют своим цветением и зимой, когда в других районах Крыма они уже не цветут в открытом грунте.

Литература

1. Андрианов В. М. Хризантемы. — М.: «Агропромиздат», 1990—108 с.
2. Дятченко О. Т. Состояние и тенденции развития цветоводства в СССР и в мире. — М.; — 1989—89 с.
3. Волошин М. П., Забелин И. А., Кормилицын А. М. Южное цветоводство. — Симферополь. — 1959—145 с.
4. Киселев Г. Е. Цветоводство. — Москва. — 1953—256 с.
5. Соболева Л. Е., Феофилова Г. Ф. — Некоторые результаты интродукции хризантем на Южный берег Крыма — Симферополь. — 1979—7 с.
6. Цветоводство январь — февраль 2006. — 46—49 с.

АРХИПОВА И. Н., СОРОКОПУДОВА О. А.

Белгородский государственный национальный исследовательский университет
Россия, 308015, Белгород, ул. Победы, 85, e-mail: arkhipova@bsu.edu.ru

СОЗДАНИЕ ГЕНОФОНДА ГИППЕАСТРУМОВ В БЕЛГОРОДЕ

Гиппеаструмы — травянистые луковичные растения семейства амариллисовых (*Amaryllidaceae* Juss.). В мире известно около 80 дикорастущих видов гиппеаструма, большинство из которых произрастает в субтропических и тропических районах Перу, Боливии, Португалии, Бразилии и Венесуэлы [7]. В настоящее время в декоративном садоводстве используется свыше 600 сортов гиппеаструмов. Все сорта гибридного происхождения относят к гиппеаструму гибриднему (*Hippeastrum* × *hybrida* hort.) [8]. В России гиппеаструм приобретает всё большую популярность и спрос на него возрастает из-за крупных, разнообразных по окраске цветков широкооткрытой формы с продолжительным периодом цветения в горшечной культуре и длительным сохранением декоративных качеств в срезке [1–4].

В Зимнем саду НИУ «БелГУ» с 2002 года создается коллекция гиппеаструмов, которая в настоящее время включает 18 сортов различного происхождения. Возобновление сортов гиппеаструма производится с помощью вегетативного размножения, коэффициент размножения которого невысок, и при многолетнем культивировании сортов существует высокий риск заражения дочерних растений вирусными заболеваниями, к которым восприимчивы многие луковичные культуры. При семенном размножении можно получить гораздо больше здоровых семян с 1 растения и создать оригинальный гибридный фонд [3]. По данным селекционера В. И. Болгова в условиях г. Сочи продолжительность выращивания от посева семян до получения цветущих растений составляет 2,5–3 года [4].

Семенная продуктивность является одним из важнейших показателей жизнеспособности вида в конкретных условиях [5] и в оценке комбинационной способности исходных форм при искусственной гибридизации. Семенная продуктивность гиппеаструма гибридного зависит от следующих составляющих: числа цветоносов на растении, цветков на цветоносе, се-

мязачатков в завязи, генотипов исходных родительских форм, а также совокупности средовых факторов, влияющих на процессы споро- и гаметогенеза, опыления, оплодотворения. Поэтому изучение процессов, связанных с семенной продуктивностью, особенностями развития сеянцев актуально для работ по интродукции, селекции и рациональному использованию этих растений. Цель данной работы — дать оценку семенной продуктивности сортов гиппеаструма гибридного, всхожести семян и состояния сеянцев для совершенствования селекционной работы и расширения ассортимента коллекции декоративных растений Зимнего сада.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили зрелые семена *Hippeastrum* × *hybrida*, собранные с генеративных растений коллекции сада. Объектами являлись 18 сортов гиппеаструма гибридного: ‘Baby Star’, ‘Candy Cane’, ‘Carmen’, ‘Cristmas Gift’, ‘Double Roma’, ‘Джевел’, ‘Fire Dance’, ‘Hercules’, ‘Ludwig’s Dazzler’, ‘Lemon Lime’, ‘Ludwig’s Goliath’, ‘Rose-pink’, ‘Minerva’, ‘Nymph’, ‘Rilona’, ‘White Giant’, ‘Промис’, ‘Харизма’ и сеянцы гиппеаструма от искусственных скрещиваний. Растения культивируются в клумбе, расположенной в центре оранжереи, некоторые сорта — в отдельных цветочных горшках, сеянцы в контейнерах. Луковицы сортов получены из Донецкого ботанического сада НАН Украины (г. Донецк) и Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина РАН (г. Москва). Семенную продуктивность изучали по общепринятой методике [5] в период с 2008 по 2011 г. Изучали потенциальную семенную продуктивность (ПСП), реальную семенную продуктивность (РСП), а также коэффициент семенной продуктивности (КСП), или процент семинификации (ПС, %).

Для успешного формирования семян цветки искусственно опыляли, так как в условиях оранжереи нет агентов переноса пыльцы — насекомых. Проводили самоопыление (на рыльца наносили пыльцу тех же сортов) и несколько комбинаций скрещиваний между разными сортами.

Всхожесть определяли по общепринятой методике [6]. Собранные семена хранили в комнатных условиях и сеяли (по 25–50 шт. в каждом варианте) в два срока с интервалом в 3 месяца в почвенную смесь, состоящую из дерновой земли, песка и опилок (1:1:1).

Результаты и их обсуждение

С 2007 года в Зимнем саду проводятся регулярные искусственные скрещивания сортов гиппеаструма, по мере пополнения коллекции комбинации скрещиваний расширяются. Многие комбинации скрещиваний оказались успешными. Плоды формировались в течение 4 недель и отличались числом семян. Семена не отличались разнообразием по окраске и величине — были темно-коричневыми, с хорошо выраженным пленчатым краем. Средние параметры семян составляли: ширина семян — $1,0 \pm 0,14$ см, длина — $1,4 \pm 0,16$ см.

В результате искусственных скрещиваний было получено от 40 до 86 жизнеспособных семян в 1 плоде; с одного растения можно было получить до 6 плодов (развивалось главным образом до 2-х цветоносных побегов в 1 луковице, опыляли до 3-х цветков на одном побеге) (табл. 1). С одного растения можно получить в один сезон до 280 жизнеспособных семян гибридных гиппеаструмов.

Таблица 1

Семенная продуктивность сортов гиппеаструмов (2008–2011 гг.)

Комбинация скрещиваний		Среднее число семян-зачатков в 1 плоде (ПСП)	Среднее число жизнеспособных семян в 1 плоде (РСП)	Коэффициент семенной продуктивности, % (КСП)
Материнский сорт	Отцовский сорт			
‘Fire Dance’	‘Baby Star’	116,5	46	39,4
‘Baby Star’	‘Fire Dance’	102	53,3	52,2
‘Промис’	‘Джевел’ + ‘Nymph’*	51,3	40,7	79,2
‘Харизма’	‘Lemon Lime’	76,0	39,7	52,2
‘Харизма’	‘Cristmas Gift’+ ‘Nymph’*	100,1	72,0	71,6
‘Lemon Lime’	‘Cristmas Gift’+ ‘Nymph’*	83,2	47,2	56,7
‘Rose-pink’	‘Carmen’	60,5	86,5	69,9
‘Ludwig’s Dazzler’	-	92,7	28	30,2
‘Minerva’	-	54	17	31,5
‘Rilona’	-	114	35	30,7

* Использовали смесь пыльцы различных сортов.

По литературным данным известно, что семена гиппеаструмов быстро теряют всхожесть [4]. Результаты всхожести семян сбора 2010 г. на примере 3-х сортов представлены в таблице 2. Результаты исследований выявили незначительное снижение показателей жизнеспособности семян гиппеаструмов при их хранении в комнатных условиях в течение трех месяцев. Массовые всходы появлялись при регулярном поливе в течение одного месяца со дня посева семян. В следующие 2 недели добавлялось незначительное число проростков.

Нами получены 1, 2 и 3-летние сеянцы от искусственных скрещиваний. Для оценки темпов роста и развития сеянцев были проведены морфологические учеты вегетативных побегов гиппеаструмов различного календарного возраста (табл. 3).

По результатам учетов видно, что для оценки онтогенетического состояния сеянцев удобным индикатором является ширина листовых пласти-

Таблица 2

Показатели жизнеспособности семян сортов гиппеаструма (2010 г.)

Материнский сорт	Дата сбора семян	Дата посева семян в грунт	Число дней от сбора семян до их посева	Дата всходов	Всходы, % от числа семян
'Baby Star'	02.04	06.04	4	02.05–15.05	79,9
'Ludwig's Goliath'	02.04	06.04	4	02.05–15.05	83,3
'Fire Dance'	02.04	06.04	4	02.05–15.05	70,8
'Baby Star'	02.04	06.07	95	30.07–06.08	75,0
'Ludwig's Goliath'	02.04	06.07	95	30.07–06.08	66,6
'Fire Dance'	02.04	06.07	95	30.07–06.08	66,6

Таблица 3

Морфологическая характеристика побегов сеянцев гиппеаструмов (данные от 15.02.2011 г.)

Календарный возраст	Параметры листьев, см		Число листьев	Средний диаметр луковиц, см
	ширина	длина		
1 год	0,6–1,8	24,5–40,0	2–4	1,7
2 год	1,1–2,0	34,0–63,5	2–5	2,6
3 год	2,5–3,2	24,0–56,6	1–4	3,1

нок, не требующим выкопки растений и ожидания срока отрастания всех листьев. Сопоставляя ширину листовых пластинок сеянцев с генеративными растениями исходных сортов, можно прогнозировать зацветание большинства гибридных сеянцев в условиях Зимнего сада на 4 год, так как ширина листьев взрослых растений исходных сортов гиппеаструмов варьировала от 2,5 до 4,5 см.

Выводы

1. У сортов гиппеаструма, интродуцированных в Зимнем саду НИУ «БелГУ», в результате аутбридинга и инбридинга формируется от 40 до 86 жизнеспособных семян в 1 плоде, коэффициент семенной продуктивности составляет от 30 до 80 %. С одного растения можно получить в один сезон до 280 жизнеспособных семян.

2. Выявлено незначительное снижение показателей жизнеспособности семян гиппеаструмов при их хранении в комнатных условиях в течение трех месяцев. Массовые всходы появляются через 20–30 дней после посева семян.

3. В условиях Зимнего сада НИУ «БелГУ» прегенеративный период онтогенеза гибридных сеянцев длится около 4 лет.

Литература

1. Азбукина Н. Ю. Интродукционное сортоизучение гиппеаструма гибридного в ГBS АН СССР//Актуальные вопросы ассортимента, агротехники и защиты оранжерейных растений. — Материалы семинара. — Рига: «Зинатне», 1987. — С. 69–77.
2. Артюшенко З. Т. Амариллисовые СССР. Морфология, систематика и использование — Л.: Наука, 1970. — 179 с.
3. Архипова И. Н., Макарова К. И. Селекция гиппеаструмов в Белгороде // «Декоративное садоводство в России: состояние, проблемы, перспективы» (Сочи, 24–26 августа 2011 г.): Материалы Международной конференции с международным участием. — Сочи, 2011. — С. 100–103.
4. Болгов В. И. Гиппеаструм гибридный. — Сочи, 2001. — 52 с.
5. Вайнагий Н. В. О методике изучения семенной продуктивности // Бот. журн. — 1974. Т. 59. — С. 826–831
6. Емельянов Н. П. Международные правила определения качества семян. — М.: Колос, 1969. — 184 с.
7. Чуб В. В., Лезина К. Д. Полная энциклопедия комнатных растений. — М.: «Эксмо-пресс». — 2002. — 416 с.
8. Этот великолепный гиппеаструм//Мой прекрасный сад. — 2002. — № 11. — С. 62–63.

Резюме

Дана оцінка семенної продуктивності сортів гіппеаструма гібридного, всхожості насіння при різних термінах їх зберігання. Встановлені параметри насінців гіппеаструма гібридного різного календарного і біологічного віку, і тривалість прегенеративного періоду онтогенезу насінців в умовах Зимнього саду.

Дана оцінка насіннєвої продуктивності сортів гіппеаструма гібридного, схожості насіння при різних термінах їх зберігання. Встановлені параметри насінців гіппеаструма гібридного різного календарного і біологічного віку, і тривалість прегенеративного періоду онтогенезу насінців в умовах Зимового саду.

The assessment of seed efficiency of varieties of a *Hippeastrum* × *hybrida*, similarity seeds at various terms of their storage is given. Parameters of seedlings of a *Hippeastrum* of hybrid various calendar and biological age, and duration of the pregenerative period of ontogenesis of seedlings in the conditions of Winter garden are established.

БАЗАЛІЙ В. В., БОЙЧУК І. В., БАБЕНКО С. М.

Вищий державний навчальний заклад «Херсонський державний аграрний університет» Мінагрополітики і продовольства України. 73006 Херсон, вул. Р. Люксембург, 23. E-mail: office @ Ksan, Kserson, ua

СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ ЗА ПРОЯВОМ ОЗНАК У F₁ І F₂ ГІБРИДІВ ДІАЛЕЛЬНИХ СХРЕЩУВАНЬ

У селекційних програмах при створенні більш урожайних з адаптивними властивостями сортів пшениці озимої важливо вже на початкових етапах селекційного процесу проводити добір генотипів, а також мати відо-

мості про характер мінливості і успадкування кількісних ознак. При діалельних схрещуваннях, як відомо, сумісна оцінка гібридів F_1 і вихідних форм дає генетичну інформацію, яка згідно законів Г. Менделя, може бути одержана лише в F_2 , тому це дозволяє скоротити час і цілеспрямовано робити добір необхідних генотипів [1–3].

Підвищення ефективності гібридизації в одержанні гетерозисних нащадків можливе при використанні в схрещуваннях батьківських форм з високою комбінаційною здатністю, яка визначається двома способами: загальна комбінаційна здатність (ЗКЗ) і специфічна комбінаційна здатність (СКЗ) [4,5].

Визначення параметрів загальної і специфічної комбінаційної варіації призначено для оцінки здатності селекційного матеріалу створювати трансгресивне розщеплення в нащадках діалельних гібридних популяцій, а також при гетерозисній селекції для створення синтетичних сортів.

На даний час велика кількість сортів пшениці м'якої озимої занесені в Державний Реєстр сортів рослин України, рекомендованих для вирощування в різних регіонах. Кожен із них має як позитивний прояв ознак, так і деякі недоліки при формуванні врожайності. Тому дослідження селекційних ознак, залежно від генотипу, в системі діалельних схрещувань і різних умов вирощування має вирішальне значення при створенні нового селекційного вихідного матеріалу.

Матеріали і методи

Вихідним матеріалом для вивчення в системі діалельних схрещувань було п'ять сортів пшениці озимої: Херсонська безоста, Одеська 267, Вікторія одеська, Знахідка одеська, Харус і 20 гібридів F_1 і F_2 . Гібриди діалельної схеми аналізували за допомогою пакета програм LGROS. Аналіз компонентів дисперсій визначали за методом Мазер К., Джинкс Дж [6]. Комбінаційну здатність сортів у системі діалельної схеми визначали за методикою Турбіна Н. В. та ін. [7].

Закладка дослідів, усі обліки і спостереження в польових експериментах проводили у відповідності з методикою Державної комісії України по випробуванню та охороні сортів рослин [8].

Результати та обговорення

Встановлення загальної комбінаційної здатності дало можливість визначити цінність батьківських форм в F_1 і F_2 усіх гібридних комбінацій, яка визначалась середньою величиною відхилень параметрів ознаки в гібридів, одержаних з участю конкретної батьківської форми від загального середнього всіх гібридів пшениці озимої.

Серед гібридів F_1 сорт Херсонська безоста мав високу достовірну позитивну оцінку ефекту генів за ознакою маса 1000 зерен, низький достовірний ефект генів за довжиною колоса, високу і низьку (недостовірну) — за висотою рослин, низький і середньо достовірний ефект спостерігався за формуванням кількості зерен у колосі.

У сорта Одеська 267 виявлено низьку ЗКЗ за довжиною колоса, кількістю зерен з колоса, середнє та низьке достовірне значення за масою 1000 зерен.

Сорт Вікторія одеська за висотою рослин і масою 1000 зерен мав високу достовірну ЗКЗ, середню за масою зерна з колоса і низьку за довжиною колоса та недостовірну за формуванням кількості зерен у колосі.

Сорт пшениці озимої Знахідка одеська виявився, серед усіх вивчаємих сортів, з високим рівнем ЗКЗ за всіма ознаками продуктивності і висотою рослин, а сорт Харус практично за всіма структурними ознаками в різні роки випробувань мав низьку оцінку загальної комбінаційної здатності.

У F_2 гібридів ефекти загальної комбінаційної здатності сортів пшениці озимої (особливо Знахідка одеська, Вікторія одеська, Херсонська безоста) за більшістю ознак закономірності, проявлені у F_1 гібридів, підтвердились.

Високою загальною комбінаційною здатністю за комплексом ознак продуктивності і висоті рослин, виділився сорт пшениці озимої Знахідка одеська, дещо йому поступався сорт Вікторія одеська. Вони мають найбільшу кількість позитивно діючих генів на аналізуючі ознаки. Гібриди між сортами з високими ефектами ЗКЗ і сортами з середньою, а інколи і низькою ЗКЗ можуть бути перспективними для сприятливого комбінування різних ознак у одному генотипі.

Сорт Харус відрізнявся низькою ЗКЗ за комплексом ознак продуктивності, що слід враховувати при використанні його в якості вихідного джерела при гібридизації.

При середній оцінці ефектів ЗКЗ за певними ознаками сорти можуть мати дещо меншу кількість генів, які позитивно визначають ці ознаки, але можуть дати значний ефект при їх використанні в гібридизації. До таких сортів пшениці озимої можна віднести Херсонську безосту і Одеську 267.

Специфічна комбінаційна здатність (СКЗ) характеризує цінність біотипів у конкретній комбінації схрещування і визначається відхиленням параметра ознаки від середньої ЗКЗ для обох батьківських форм.

За більшістю ознак усі вивчені сорти пшениці озимої в 2007–2008 рр. мали середні ефекти СКЗ. В цьому відношенні виключенням за СКЗ в F_1 і F_2 були сорти пшениці озимої Херсонська безоста, Вікторія одеська, Знахідка одеська — лише за висотою рослин і масою 1000 зерен.

Як відомо, порівняння ЗКЗ і СКЗ дає можливість більш чітко визначити цінність вивчаємих сортів за комбінаційною здатністю. При високій ЗКЗ і низькій СКЗ усі комбінації схрещування з участю досліджуваного сорту пшениці озимої мають майже однаковий прояв спадкової ознаки. Такі сорти можуть бути використанні в комбінаційній селекції.

Високе значення ЗКЗ і низьке або середнє СКЗ в F_1 і F_2 гібридів було, як правило, у сортів Вікторія одеська за ознакою продуктивності колоса, Знахідка одеська практично за всіма ознаками продуктивності в F_1 і F_2 .

Середня або висока ЗКЗ при низькій СКЗ, як правило, була у сорта Вікторія одеська за висотою рослин, і кількістю зерен з колоса, Херсонської безостої за масою 1000 зерен, Знахідки одеської — майже за всіма ознаками.

Сорти пшениці озимої з високим рівнем ЗКЗ і СКЗ (Вікторія одеська, Знахідка одеська — за масою 1000 зерен, Херсонська безоста — за висотою рослин), можуть формувати специфічні гібридні комбінації з перевищенням величини спадкової ознаки.

За більшістю ознак різні рівні ЗКЗ і СКЗ визначені для конкретного сорту в F_1 гібридів, в основному, підтвердились у F_2 . По ЗКЗ це найбільш чітко проявилось у сортів Знахідка одеська і Вікторія одеська, по СКЗ практично в усіх сортів за більшістю ознак, окрім сорту Харус.

У результаті досліджень визначено генетичні компоненти дисперсії кількісних ознак у гібридів F_1 і F_2 діалельних схрещувань за 2007–09 рр. (таблиця).

Таблиця

Компоненти генетичної дисперсії кількісних ознак у гібридів F_1 діалельних схрещувань, 2007–09 рр.

Компоненти	Рік	Висота рослин	Продуктивна кущистість	Кількість		Маса	
				колосків в колосі	зерен з колоса	зерна з колоса	1000 зерен
D	2007	148,4	2,28	4,18	7,34	0,98	9,18
	2008	70,8	1,14	2,08	6,12	2,06	14,64
	2009	96,4	0,98	4,07	6,08	1,84	3,18
F	2007	68,4	0,94	5,96	8,14	0,38	12,64
	2008	10,8	0,68	7,18	9,08	1,84	8,14
	2009	40,9	0,18	3,96	10,24	1,15	12,48
H_1	2007	198,4	4,04	16,48	28,16	4,18	89,14
	2008	96,1	4,14	10,44	19,61	5,64	42,80
	2009	146,4	1,64	24,14	39,64	6,18	92,40
H_2	2007	154,4	3,18	12,41	24,41	3,64	64,18
	2008	84,6	3,86	14,91	14,68	4,18	19,64
	2009	201,4	1,68	18,42	30,81	5,09	83,80
H_1/D	2007	1,34	1,77	3,94	3,84	4,27	9,71
	2008	1,36	3,60	5,02	3,17	2,74	2,92
	2009	1,52	1,67	5,93	6,52	3,36	29,05

Встановлено, що компоненти H_1 і H_2 домінантних ефектів генів значно більші показників компоненти D адитивних ефектів генів. Це свідчить про те, що в батьківських форм переважають домінантні ефекти генів за всіма аналізуємими ознаками. На це також вказує компонент F частота розподілу домінантних і рецесивних алелей, так як за всіма ознаками, $F > 0$, тоб-

то батьківські форми мають більше домінантних алелей, або вірогідно, що переважає в них не лише кількість, а і ефекти домінантних генів. Середня ступінь домінування (відношення H_1/D) за всіма ознаками більше одиниці, що вказує на наддомінування.

У F_2 були підтвердженні генетичні закономірності, встановленні в F_1 , за винятком ознаки висота рослин (H_1/D менше одиниці, часткове домінування).

Висновки

У результаті досліджень встановлено особливості прояву компонентів генетичної дисперсії (сумарний адитивний ефект генів D , домінантний ефект H_1 і H_2 , середній ступінь домінування H_1/D) у гібридів діалельних схрещувань F_1 і F_2 пшениці озимої. Виявлено, що структурні ознаки продуктивності, в основному, детермінуються домінантними генами. Це передбачає значний обсяг гібридного матеріалу для добору господарсько-корисних генотипів гібридної популяції раннього розщеплюючого покоління F_2 , тому добір за більшістю ознак слід проводити в більш пізніх поколіннях гібридів F_3 .

Література

1. Драгоавцев В. А. Генетика признаков продуктивности яровых пшениц в Западной Сибири / В. А. Драгавцев, Р. А. Цильке, Б. Г. Рейтер и др. — Новосибирск, 1984. — 104 с.
2. Хангильдин В. Х. Основные направления и генетические основы селекции / В. Х. Хангильдин, В. В. Хангильдин // Генетика и селекция гороха — Новосибирск, 1975. — С. 224–267.
3. Воронкова Н. Е. Некоторые подходы к оценке селекционной ценности сортов и гибридов пшеницы / Н. Е. Воронкова // Сельскохозяйственная биология. — 1982. — XVII (4). — С. 458–462.
4. Турбин Н. В. Генетика гетерозиса и методы селекции растений на комбинационную способность / Н. В. Турбин // Генетические основы селекции. — М.: Наука и техника, 1971. — С. 112–135.
5. Федин М. А. Статистические методы генетического анализа / М. А. Федин, Д. Я. Силис, А. В. Смирнов. — М.: Колос, 1980. — 207 с.
6. Мазер К. Биометрическая генетика / К. Мазер, Дж. Джинкс. — М.: Мир, 1985. — 463 с.
7. Турбин Н. В. Диаллельный анализ и селекция растений / Н. В. Турбин, Л. В. Хотылева, Л. А. Тарутин. — Минск: Наука и техника, 1974. — 184 с.
8. Охорона прав на сорти рослин. Офіційний бюлетень. Державна комісія по сортовипробуванню та охороні сортів рослин. — К.: Алефа, 2003. — Вип. 2–3. — С. 5–6. 191–193.

Резюме

Встановлено особливості п'яти сучасних сортів пшениці м'якої озимої за рівнем і співвідношенням загальної (ЗКЗ) та констант специфічної (СКЗ) комбінаційної здатності за висотою рослин і елементами продуктивності в F_1 і F_2 гібридних популяцій в системі повних діалельних схрещувань.

Установлены особенности пяти современных сортов пшеницы мягкой озимой по уровню и соотношению общей (ОКС) и констант специфической (СКС) комбинационной способности по высоте растений и элементов продуктивности в F_1 и F_2 гибридных популяций в системе полных диаллельных скрещиваний.

It is set features of five modern sorts of soft winter wheat on a level and correlation genera (GCA) and constant specific (SCA) combination ability on a height and elements productivity in F_1 and F_2 hybrid population in the system of diallel crossing.

БАСКАКОВА В. Л.

Никитский ботанический сад — Национальный научный центр НАН Украины, Украина, 98648, АР Крым, г. Ялта, e-mail: valentina.gnbs@rambler.ru

СЕЛЕКЦИЯ ГРУШИ НА ПОЗДНИЙ СРОК СОЗРЕВАНИЯ ПЛОДОВ

Сорта груши должны быть с различными сроками созревания, чтобы обеспечить длительный и непрерывный конвейер поступления свежих плодов в течение года. Известно значительное количество летних и осенних сортов и меньше всего зимних. Селекционеры, работающие с грушей, экспериментально доказали, что выведение поздних сортов с продолжительной лежкостью плодов является одной из самых трудных задач селекции.

Зимний срок созревания — признак рецессивный и не всегда в достаточной степени передается от родителей гибридному потомству [4]. О преобладании у гибридов осеннего и летнего сроков созревания плодов отмечалось рядом исследователей [3, 7, 8]. В то же время в потомстве некоторых позднезимних сортов получается от 26 до 41 % семян зимнего срока созревания [2]. В условиях Молдавии в отдельных комбинациях с поздними сортами было получено от 21 до 50 % таких гибридов [1].

В литературных источниках приводятся сорта — источники позднего созревания плодов. Но набор этих сортов небольшой. К тому же в потомстве от скрещивания многих из них преобладают гибриды с плохим качеством плодов. В связи с этим изучение наследования признака позднего созревания имеет актуальное значение.

Материалы и методы

Исследования проводили в отделе степного растениеводства НБС — ННЦ на сеянцах груши, полученных в 1982–1993 гг. Сроки созревания плодов изучались по общепринятым методикам [6] по мере вступления гибридов в плодоношение. По каждому сеянцу выводили среднюю дату по данным не менее чем за 3 года наблюдений. Плоды поздних сортов, снятые в конце сентября — начале октября, хранились в условиях подвала при температуре в зимнее время от +3 до +6 °С.

В изучение было взято 52 гибридные семьи, в которых в качестве родительских были использованы западноевропейские, американские, восточноевропейские и среднеазиатские сорта. В работах многих селекционеров

сорта Пасс Крассан и Оливье де Серр выявлены как источники позднего созревания плодов [5].

Селекционный участок расположен в центральном равнинно-степном районе Крыма, который отличается засушливым климатом с умеренно-жарким вегетационным периодом и мягкой неустойчивой зимой. Среднегодовая температура воздуха 10,4 °С. Сумма температур выше 10 °С составляет 3215 °С. Годовая сумма осадков в среднем равна 462 мм.

Результаты и обсуждение

Анализ селекционного фонда показал различные потенциальные возможности родительских форм в образовании потомства груши с поздним сроком созревания плодов. Так, в комбинациях скрещивания летних сортов с летними и летних с осенними гибридное потомство получается сравнительно однородным. Основная масса сеянцев наследует летний и осенний срок созревания плодов. Доля сеянцев зимнего срока созревания была очень незначительной. Наименьшее количество получено в семье Вильямс х Бере Жиффар (0,4%), наибольшее — в семье Сокровище х Бере Боск (4,3%).

Наиболее разнообразным по срокам созревания получается потомство от скрещивания осенних сортов с зимними и зимних между собой (таблица). В 39 комбинациях скрещивания участвовало 5 осенних сортов и 11 зимних. При скрещивании зимних сортов с зимними выход сеянцев с поздним сроком созревания составил 14–42%. Лучшими исходными формами оказались сорта Мервей Рибе, Оливье де Серр, Пасс Крассан, Форель Зимняя, Ноябрьская Молдавии, Киргизская Зимняя, Выставочная Молдавии. Наиболее перспективными комбинациями можно считать Оливье де Серр х Пасс Крассан (42%), Пасс Крассан х Мервей Рибе (39%), Оливье де Серр х Выставочная (38%).

При использовании в скрещивании зимнего сорта Пасс Крассан с осенними сортами получается невысокий выход поздносозревающих гибридов — от 3 до 19%. Во всех комбинациях этого сорта с другими зимними сортами выход таковых сеянцев повышается до 28–42%. Аналогичные данные получены и по сорту Оливье де Серр.

Перспективным сортом в селекции на позднее созревание плодов оказался среднеазиатский сорт Киргизская Зимняя. Если в комбинации с раннезимним сортом Ноябрьская Молдавии получено только 19% поздних гибридов, то при скрещивании со всеми другими более поздносозревающими сортами процент повышается до 31–38. Также следует отметить, что в комбинации с сортом Джанкойская Поздняя выделено 5 гибридных форм с наиболее продолжительным периодом хранения (до мая).

Количество сеянцев с хорошей лежкостью во всех комбинациях скрещивания невелико. В семье Оливье де Серр х Выставочная выделено 2 гибрида с продолжительностью хранения до второй декады апреля и 3 —

Таблица

Распределение сеянцев груши по срокам созревания плодов

Комбинация скрещивания	Сроки созревания исходных сортов		Всего сеянцев, шт.	Из них со сроком созревания, %		
	♀	♂		летние	осенние	зимние
Фелпс х Мервей Рибе	ос.	зим.	141	15	69	16
« х Пасс Крассан	“	зим.	32	44	53	3
« х Форель Зимняя	“	зим.	79	40	46	14
« х смесь пыльцы	“		112	33	44	23
Тающая Рождественская х Жанна Д'Арк	ос.	зим.	37	14	67	19
« х Мервей Рибе	“	зим.	133	45	44	11
« х Пасс Крассан	“	зим.	68	48	47	5
« х Меллина	“	ос.	53	79	21	0
Меллина х Мервей Рибе	ос.	зим.	62	16	72	12
« х Жанна Д'Арк	“	зим.	37	14	78	8
« х Пасс Крассан	“	зим.	24	17	64	19
« х Оливье де Серр	“	зим.	35	11	72	17
Форель Зимняя х Фелпс	зим.	зим.	34	42	43	15
« х Пасс Крассан	“	зим.	39	14	58	28
« х Меллина	“	ос.	30	68	20	12
« х Тающая Рождественская	“	ос.	39	11	81	8
« свободного опыления	“		34	24	58	18
Пасс Крассан х Мервей Рибе	зим.	зим.	24	10	51	39
« х Оливье де Серр	“	зим.	27	8	60	32
« х Тающая Рождественская	“	ос.	59	43	48	9
« х Меллина	“	ос.	34	55	41	4
« х Бере Боск	“	ос.	36	30	64	6
« свободного опыления	“		25	42	45	13
Оливье де Серр х Доктор Тиль	зим.	ос.	22	50	38	12
« х Пасс Крассан	“	зим.	44	17	41	42
« х Ноябрьская	“	зим.	26	33	37	30
« х Выставочная	“	зим.	31	20	42	38
« свободного опыления	“		29	24	58	18
Ноябрьская х Бере Боск	зим.	ос.	35	31	51	18
« х Бере Арданпон	“	зим.	41	32	47	21
« х Отечественная	“	зим.	27	25	54	21
« х Оливье де Серр	“	зим.	45	22	49	29
Бере Боск х Ноябрьская	ос.	зим.	26	25	52	23
« х Отечественная	“	зим.	27	16	78	6
« х Пасс Крассан	“	зим.	25	24	65	11
Киргизская Зимняя х Ноябрьская	зим.	зим.	38	39	42	19
« х Джанкойская Поздняя	“	зим.	78	12	52	36
« х Выставочная	“	зим.	56	19	50	31
« х Пасс Крассан	зим.	зим.	29	9	53	38

Примечания: ос. — осенний срок созревания плодов; зим. — зимний.

до середины марта. По 4 сеянца выделены в семьях Форель Зимняя х Пасс Крассан и Пасс Крассан х Оливье де Серр, плоды которых в условиях подвала сберегаются до конца марта. В комбинациях осенних сортов с зимними плоды у поздносозревающих форм хранятся в основном до начала января — середины февраля.

В семьях с участием осенних сортов Бере Боск, Меллина и других в потомстве преобладают или сеянцы осеннего срока созревания, или осеннего и летнего. В комбинации Тающая Рождественская х Меллина большинство гибридов созревают раньше родительских сортов, а поздносозревающие совсем отсутствуют.

Преимущественного влияния одного из родительских сортов в наследовании признака позднего созревания нами не обнаружено. У большинства прямых и обратных скрещиваний количество зимних гибридов различается незначительно: в парах Фелпс х Форель Зимняя (14 и 15%), Оливье де Серр х Ноябрьская (29 и 30%), Тающая Рождественская х Пасс Крассан (5 и 9%). Имеются некоторые различия с участием сортов Меллина и Бере Боск. При участии их в качестве материнских форм процент поздних сеянцев увеличивается: Пасс Крассан х Меллина (4%), Меллина х Пасс Крассан (19%), Пасс Крассан х Бере Боск (6%), Бере Боск х Пасс Крассан (11%).

Представляет интерес в качестве исходной формы на позднеспелость сорт груши Ноябрьская Молдавии. При участии в качестве материнской и отцовской формы получили от 18 до 30% гибридов с поздним созреванием. Следует также отметить, что в этих комбинациях число сеянцев зимнего срока созревания с хорошим качеством плодов больше, чем в других — 30–38%. В целом, селекция поздних сортов осложняется тем, что в потомстве среди зимних сеянцев получается очень мало гибридов с высоким качеством плодов. Так, в семьях с участием сортов Фелпс, Тающая Рождественская, Форель Зимняя выделены единичные гибриды зимнего созревания с хорошим качеством плодов. В семьях Меллина х Пасс Крассан, Меллина х Оливье де Серр, Пасс Крассан х Бере Боск, Оливье де Серр х Выставочная этот процент повышается до 20–25%.

Из гибридного фонда отобрано 9 форм с поздним созреванием плодов хорошего и отличного качества. Эти гибриды обладают хорошей урожайностью, устойчивостью к болезням, низким зимним температурам. В Держсортослужбу на испытание передан сорт Гвардейская Зимняя (Гвардійська Зимова), выделенный из комбинации Фелпс х смесь пыльцы (Фелпс + Пасс Крассан + Форель Зимняя + Доктор Жюль Гюйо). Деревья сорта слаборослые. Хорошо совместим с айвовым подвоем. Цветет в поздние сроки. Урожай до 23 кг с дерева. Плоды крупные, 270–290 г, желтые с розовато-красным румянцем. Дегустационная оценка — 4,7 балла.

Выводы

Представленные данные свидетельствуют о том, что при выведении сортов позднего срока созревания лучший результат дает скрещивание зимних сортов между собой. Наиболее продуктивными в этом направлении оказались семьи Оливье де Серр х Пасс Крассан, Пасс Крассан х Мервей Рибе, Оливье де Серр х Выставочная. В комбинациях поздних сортов с осенними Меллина х Пасс Крассан, Меллина х Оливье де Серр, Пасс Крассан х Бере Боск выделено больше позднеспелых гибридов с хорошим качеством плодов.

Представляет интерес в качестве исходной формы сорт груши Киргизская Зимняя, при участии которого третья часть полученных сеянцев наследует зимний срок созревания.

Выделен сорт Ноябрьская Молдавии как перспективный в селекции на позднее созревание. При его участии в гибридном потомстве отмечается наибольший выход высококачественных сеянцев зимнего срока созревания.

Литература

1. Душутина К. К. Селекция груши. — Кишинев: «Карта Молдовеняске», 1979. — 196 с.
2. Максимова И. Н. Особенности наследования признаков при селекционной работе с грушей // Южное степное садоводство. — Днепропетровск, 1973. — С. 190–198.
3. Потапов С. П., Степченко Н. Г. Анализ сроков созревания у сеянцев груши // Известия ТСХА. — 1978. — Вып. 261. — С. 29–32.
4. Седов Е. Н. Достижения в селекции груши. — М.: ВНИИТЭИСХ, 1980. — 61 с.
5. Седов Е. Н., Долматов Е. А. Селекция груши. — Орел: ВНИИСПК, 1997. — 255 с.
6. Селекция груши // Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел, 1995. — С. 201–224.
7. Рылов Г. П. Груша в Белоруссии. — Минск: Ураджай, 1991. — 240 с.
8. Яковлев С. П. Генетические основы подбора исходных родительских пар в селекции груши/Методические рекомендации. — Мичуринск, 1988. — 68 с.

Резюме

Приведены результаты анализа гибридных семей груши по наследованию признака позднего созревания плодов. Выделены сорта, которые наилучшим образом передают это свойство потомству.

Наведено результати аналізу гібридних сімей за успадкуванням ознаки пізнього строку досягання плодів. Виділені сорти, що найкраще передають цю властивість потомству.

The results of analysis of hybrid families of pear by inheritance of a sign of late maturing of fruits have been given. Varieties, given their high late maturing on the inheritance have been selected.

БАТУРИН С. О.

Институт цитологии и генетики СО РАН,

Россия, 630090, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 10, e-mail: SO_baturin@mail.ru

НАСЛЕДОВАНИЕ РЕМОНТАНТНОСТИ В СИБИРСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ *FRAGARIA VESCA* L.

Земляника лесная (*Fragaria vesca*, $2n=2x=14$) в течение одного вегетативного периода имеет однократное цветение и плодоношение. Тем не менее, в дикорастущих популяциях лесной земляники альпийского горного массива помимо однократного характера плодоношения, выявлено повторное или многократное плодоношение (Richardson, 1914). В Западной Европе это свойство проявления ремонтантности легло в основу селекции мелкоплодных сортов земляники (Dagrow, 1966). Ремонтантность, представляет собой одно из двух альтернативных состояний признака «тип плодоношения». Характер наследования признака «тип плодоношения» показан как монофакториальный, где однократное плодоношение в течение одного вегетационного периода контролируется доминантным аллелем (*S*), а многократное плодоношение (ремонтантность) — контролируется рецессивным аллелем (*s*) (Richardson, 1914; Brown, Wareing, 1965; Фадеева, 1975). В Западной Сибири активное цветение *F. vesca* приходится на первую декаду июня. Во время экспедиционных обследований 2002–2011 гг. дикорастущих популяций *Fragaria vesca* нами выявлены случаи повторного цветения и плодоношения. Такие растения чаще выявлялись в лесных горных массивах Горной Шории, предгорий Кузнецкого Алатау и Салаира, хребтов Саяно-Алтайского нагорья и Алтая. Цель данной работы — изучение характера наследования ремонтантного плодоношения в дикорастущих популяциях *Fragaria vesca* Западной Сибири.

Материал и методы

Исследование проведено с привлечением образцов *F. vesca*, собранных из различных биотопов Западной (Новосибирская, Кемеровская области) и Южной Сибири (Хакасия, Горная Шория, Горный Алтай). Для анализирующих скрещиваний использовали коммерческие сорта *Fragaria vesca* Желтое чудо, Александрия, Барон Вайс Золемахер с ремонтантным типом плодоношения. В качестве изоляторов для соцветий с кастрированными цветками использовали шитые пакеты из прозрачного упаковочного целлофана. Соцветие помещали в изолятор, вокруг основания цветоноса прокладывалась вата для предотвращения попадания насекомых (возможных переносчиков пыльцы), сверху изолятор завязывали тонким шпагатом с этикеткой. Семена проращивались при комнатной температуре в чашках Петри после двухмесячной стратификации при температуре 3–5 °С. В августе сеянцы в возрасте 5–6 месяцев переносились в открытый грунт. Сеянцы выращивались на стандартном агрофоне без полива и дополнительного внесения удобрений. Для математической обработки результатов исполь-

зовали стандартные статистические методы (Зайцев, 1990). В эксперименте для оценки соответствия сегрегации, полученной в опыте, теоретически ожидаемой был использован критерий *G* (Малецкий, 2000).

Результаты и обсуждение

Проращивание более 10000 семян, собранных у 43 дикорастущих образцов с однократным плодоношением из различных биотопов, не вывило среди сеянцев от самоопыления ремонтантных фенотипов. Дикорастущие образцы с однократным плодоношением (неремонтантные) оказались гомозиготными по доминантному аллелю *S*. В связи с этим в статье основное внимание уделено тем образцам дикорастущей *F. vesca*, у которых обнаружены повторно плодоносящие растения. Плодоносящие в августе-октябре растения *F. vesca* встречались чаще в горно-таежных массивах Горной Шории и Кузнецкого Алатау (Кемеровская область). Для уточнения природы ремонтантного плодоношения был проведен его генетический анализ. Семянки, извлеченные из плодов, развившихся в августе или осенью (сентябрь-октябрь), были высеяны. Анализ выросших сеянцев показал, что большинство опытных образцов в семенном потомстве не проявляют ремонтантный характер плодоношения, т. е. аллель *s*, отвечающий за проявление ремонтантности, не активен (табл. 1). Лишь у образцов № 04–27, № 05–12, № 05–13 и № 99–1 из Кемеровской области в семенном потомстве отмечены ремонтантные сеянцы, т. е. в потомстве от самоопыления этих образцов наблюдается новый рецессивный фенотип — ремонтантное плодоношение.

Таблица 1

Распределение сеянцев по признаку «тип плодоношения» у дикорастущих образцов *Fragaria vesca* L. при их самоопылении

№ образца	Число сеянцев с неремонтантным типом плодоношения	Число сеянцев с ремонтантным типом плодоношения
99–1*	14	1
02–26	136	0
02–30	9	0
02–43	69	0
03–15	44	0
04–27*	40	6
02–19	144	0
05–13*	35	1
05–12*	3	1
06–14	11	0
08–5	139	0
08–8*	4	0
04–26	29	0

В связи с наличием полиморфизма в потомстве по изучаемому признаку возникла необходимость генетического анализа дикорастущих образцов на соответствие модели моногенного наследования изучаемого признака. Нулевая гипотеза предполагает соответствие фактических данных теоретическому расщеплению как соотношение 3:1 (3 сеянца с неремонтантным типом плодоношения и 1 сеянец с ремонтантным типом плодоношения). Для изучения характера наследования признака «тип плодоношения» было изучено распределение фенотипов в потомстве (F_1), полученное при самоопылении образца № 04–27 (табл. 2). Рассчитанное значение критерия соответствия нулевой гипотезе (критерий G) равно 3,73. Табличное его значение (при уровне значимости 0,05 и одной степени свободы) 3,84, так как $3,73 < 3,84$, то нулевая гипотеза принимается и данные соответствуют моногенному наследованию признака. Таким образом, в исследованной сибирской популяции в окрестностях села Барановка Кемеровской области признак «тип плодоношения» — это моногенно наследуемый признак, при котором ремонтантность — рецессивный признак, а однократный тип плодоношения — доминантный признак. Полученный нами результат по изучению наследования ремонтантности не противоречит сведениям, опубликованным ранее (Brown, Wareing, 1965; Фадеева, 1975). В итоге, генетически детерминированное ремонтантное плодоношение обнаружено лишь в популяции расположенной в окрестностях с. Барановка Кемеровской области. В ней выявлены растения (образцы № 04–27, № 05–12, № 05–13 и № 99–1), которые сами, не будучи ремонтантными, при самоопылении дают ремонтантные сеянцы, т. е. являются гетерозиготными по типу плодоношения. Один из ремонтантных сеянцев № 01/7–9–4, полученный от образца № 99–1, был проверен на гомозиготность по рецессивному фенотипу путем его самоопыления. Все 223 полученных от него сеянца (I_2) имели повторное плодоношение, т. е. проявляли истинную ремонтантность. Таким образом, ремонтантный сеянец № 01/7–9–4 является гомозиготным по рецессивному признаку — ремонтантное плодоношение. Поскольку проявление ремонтантности следует считать мутацией гена, контролирующего характер плодоношения, то возникла необходимость проверки соответствия этой мутации, выявленной в сибирских популяциях лесной земляники, мутации присутствующей в альпийских популяциях. Для этого использовали коммерческие ремонтантные сорта *F. vesca*, созданные на базе генофонда альпийских популяций лесной земляники. Результаты скрещиваний образца № 01/7–9–4 с сортами Желтое чудо, Александрия, Барон Вайс Золемахер представлено в таблице 2.

Результаты опыта показали, что сорта альпийского происхождения, как и ожидалось, гомозиготные по типу плодоношения, что подтверждается их самоопылением, а также скрещиванием их между собой. Ремонтантным было и потомство у анализируемого образца 01/7–9–4. При использовании образца 01/7–9–4 как в качестве отцовского родителя, так и материнского,

Таблица 2

Сегрегация по признаку «тип плодоношения» в потомствах *Fragaria vesca* с участием образца № 01/7–9-4

Комбинация опыления	Тип плодоношения	
	однократный	ремонтантный
Барон Вайс Золемахер S	0	48
Желтое Чудо S	0	26
Александрия S	0	61
01/7–9-4 S	0	62
Желтое Чудо × Александрия	0	31
Александрия × Барон Вайс Золемахер	0	10
Барон Вайс Золемахер × 01/7–9-4	0	205
Желтое Чудо × 01/7–9-4	0	115
01/7–9-4 × Александрия	0	124

Примечание: S — самоопыление.

получены потомства в которых все сеянцы проявляли ремонтантность. Таким образом, мы можем утверждать, что мутация, вызывающая ремонтантность в популяции *F. vesca*, произрастающей в окрестностях села Барановка Кемеровской области предгорье Кузнецкого Алатау, произошла в том же локусе, что и подобная мутация в альпийских популяциях лесной земляники и наследуется согласно менделеевским законам.

В нашем исследовании обнаружено, что случаи повторного плодоношения растений в популяциях *F. vesca* не наследуются в семенном потомстве. Генетический анализ повторно плодоносящих растений свидетельствует об их гомозиготности по доминантному признаку — однократное плодоношение. Такие растения, изъятые из естественной среды произрастания и помещенные в условия коллекционного участка, прекращали повторно плодоносить. По-видимому, ремонтантность — это была реакция на особые микроклиматические условия конкретного сезона вегетации (Shinnsteby, Heide, 2008), т. е. наличие повторного цветения и плодоношения у них имеет эпигенетический контроль. Эпигенетическая форма наследования признаков — это любые изменения в хроматине ядер, происходящие в онтогенезе (Малецкий, 2005). При определенных изменениях условий внешней среды происходит деметилирование ДНК, которое приводит к тому, что рецессивный аллель «ремонтантности» переходит в активное состояние, и мы можем наблюдать повторное цветение и плодоношение (Лавров, Мавродиев, 2003). Завязываемость семян у повторно плодоносящих растений невысокая и составляет 20–25 %, а всхожесть варьирует среди различных образцов от 20 % до 81,2 %. Тем не менее, повторное плодоношение позволяет увеличивать семенную репродукцию в популяциях, тем самым успешно конкурировать за новые места обитания.

Таким образом, в дикорастущих сибирских популяциях *F. vesca* у некоторых растений наблюдается повторное цветение и плодоношение не связанное с активностью аллеля ремонтантности. Такое явление есть результат реакции генотипа растения на конкретные для сезона вегетации условия произрастания, т.е. в таких случаях имеет место проявление эпигенетического контроля признака ремонтантности. Тем не менее, обнаружена популяция *F. vesca* в предгорье Кузнецкого Алатау, имеющая гетерозиготные растения по типу плодоношения. Характер сегрегации в потомстве от самоопыления растений этой популяции свидетельствует о том, что ремонтантность контролируется монофакториально с рецессивным типом наследования и имеет природу происхождения аналогичную в альпийских популяциях.

Работа выполнена при финансовой поддержке экспедиционных грантов СО РАН 2010–2011 гг.

Литература

1. Зайцев Г.Н. Математика в экспериментальной ботанике. — М.: Наука, 1990. — 296 с.
2. Лавров С.А., Мавродиев Е.В. Эпигенетическое наследование признаков и его возможная роль в микроэволюции растений // Журнал общей биологии, 2003. — Т. 64. — № 5. — С. 403–420.
3. Малецкий С.И. Биномиальные распределения в генетических и популяционно-генетических исследованиях на растениях. — Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2000. — С. 28–30.
4. Малецкий С.И. Иерархия единиц наследственности, изменчивость, наследование признаков и видообразование у растений // Эпигенетика растений: сб. науч. тр. / Сост. Малецкий С.И., Левитес Е.В. — Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2005. — С. 7–53.
5. Фадеева Т.С. Генетика земляники. — Л. 1975. — 184 с.
6. Brown T., Wareing P.E. The genetical control of the everbearing habit and three other characters in varieties of *Fragaria vesca* // Euphytica. — 1965. — V. 14. — P. 97–112.
7. Darrow G.M. The strawberry history, breeding and physiology. — Hort. Rinehart and Winston, New York. — 1966. — 447 p.
8. Richardson C.W. A preliminary note on the genetics of *Fragaria* // J. of Genetics, — 1914. — № 3. — P. 171–177.
9. Sunsteby A., Heide O.M. Long-day rather than autonomous control of flowering in the diploid everbearing strawberry *Fragaria vesca* ssp. *semperflorens* // J. Hort. Sci. Biotech., — 2008. — 83. — P. 360–366.

Резюме

В дикорастущих популяциях *Fragaria vesca* L. юго-западного сибирского региона выявлены растения с повторным цветением и плодоношением. Генетический анализ таких растений показал, что ремонтантность, как правило, не наследуется в потомстве. Обсуждается проявление эпигенетического контроля признака ремонтантности у таких растений. Лишь одна популяция *F. vesca* из предгорья Кузнецкого Алатау имеет действительно гетерозиготные растения по типу плодоношения, кото-

рые при самоопылении дают ремонтантные растения в соответствии с менделеевской моделью наследования признака.

In populations *Fragaria vesca* L. at Sought-west Siberia plants with repeated flowering and fruiting at single vegetation period were discovered. Genetical analysis of such plants has shown that day-neutrality isn't inherited in progenies. The possibility of epigenetical control above day-neutrality such plants are discussing. Only one population *F. vesca* from foothills Kuznetskiy alatau contains really heterozygote plants according to the type of fruiting, when self-pollination they produced day-neutral plants in correspondence of the Mendelian model of the inheritance of the day-neutrality.

БАШКИРОВА Н. В.

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
Україна, 03041, Київ, вул. Героїв Оборони, 15

СЕЛЕКЦІЙНА ЦІННІСТЬ ІНБРЕДНИХ ЛІНІЙ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ

На протязі тривалого часу внаслідок проведення важливих, з точки зору господарів землі, заходів (розорювання величезних масивів, вирубка лісів, будівництво гребель та виникнення великих водосховищ), генетична база рослинництва значно звужується через зникнення багатьох диких видів культурних рослин, а зникнення диких видів комах — запилювачів створило ряд проблем в насінництві важливих культур. В першу чергу це відноситься до люцерни посівної, ефективними запилювачами якої є дикі види бджолиних. Рядом учених і нашими попередніми дослідженнями було доведено, що для забезпечення сільськогосподарських підприємств достатньою кількістю насіння люцерни, необхідно створювати високопродуктивні сорти, які схильні до самозапилення [1, 2, 3, 4, 5]. Найефективнішим шляхом їх створення є використання самофертильних ліній з високою загальною комбінаційною здатністю як компонентів сортів — синтетиків.

Матеріал і методики

Вивчали 7 самофертильних інбредних ліній та гібриди, створені на їх основі за повною діалельною схемою. Закладання досліду, догляд за посівом, спостереження, вимірювання проводили у відповідності до методики польових досліджень [6], визначення ефектів загальної та специфічної комбінаційної здатності проводили за Гриффінгом, IV модель.

Результати та обговорення

Проводили вивчення урожайності насіння та кормової маси інбредних ліній люцерни, крім того, вивчали рівень самосумісності рослин інбредних ліній. Одержання інбредних ліній стало можливим тільки тому, що вихідні їх батьківські форми були високосамосумісними. Було цікаво перевірити рівень самосумісності рослин інбредних ліній і порівняти його з рівнем зав'язування бобів при перехресному вільному запиленні (табл. 1). З наведених результатів видно, що всі рослини інбредних ліній мали високий рі-

вень самосумісності — від 38,0% до 62,1%. Але необхідно відмітити, що ці рослини не втрачають здатності до перехресного запилення, тому їх самосумісність є фактором, який в роки несприятливі за погодними умовами (низькі температури повітря і відсутність комах — запилювачів) буде слугувати додатковим механізмом, який підвищуватиме зав'язування насінин в бобі і, таким чином, насіннєву продуктивність.

Таблиця 1

Рівень зав'язування бобів на рослинах інбредних ліній при різних типах запилення

№ п/п	Польовий номер та походження	Зав'язування бобів (%) при	
		перехресному запиленні	самозапиленні
1	№ 25 I ₈ Кішвардай 27	52,3	62,1
2	№ 29 I ₈ Феракс 58	56,9	41,0
3	№ 32 I ₈ Альфа 38	48,6	42,3
4	№ 36 I ₈ Зігуен 4	57,2	62,1
5	№ 48 I ₈ Альфа 12	54,3	46,6
6	№ 54 I ₈ Евріка 1	64,1	43,1
7	№ 57 I ₈ Евріка 10	53,9	38,0
8	Ярославна — стандарт	63,45	43,4

Вивчали урожайність кормової маси інбредних ліній, адже інбридинг приводить до значного зниження цього показника. Але нашими попередніми дослідженнями було показано, що проведення доборів серед нащадків за ознакою «урожайність кормової маси» дозволяє створювати інбредні лінії, у яких зниження показника не перевищує 10%.

В фазу бутонізації визначали вагу зеленої маси з 1 метра ділянки при широкорядному посіві (60 см міжряддя) розсадника інбредних ліній. Погодні умови року не сприяли утворенню нормальної кормової маси в 1 укосі через недостатність вологи навесні (табл. 2).

Таблиця 2

Урожайність насіння та кормової маси інбредних ліній люцерни

№ п/п	Польовий номер та походження	Маса насіння,		Вага зеленої маси	
		г/м ²	% до стандарту	кг/м ²	% до стандарту
1	№ 25 I ₇ Кішвардай 27	11,45	76,33	0,99	80,48
4	№ 29 I ₈ Феракс 58	11,96	79,87	0,96	78,04
6	№ 32 I ₈ Альфа 38	14,73	98,20	0,87	70,73
7	№ 36 I ₈ Зігуен 4	14,25	95,00	0,94	76,42
8	№ 48 I ₈ Альфа 12	11,78	78,53	0,98	79,67
9	№ 54 I ₈ Евріка 1	12,45	83,00	0,93	75,61
10	№ 57 I ₈ Евріка 10	15,52	103,46	0,92	74,96
13	Ярославна — стандарт	15,00	100,00	1,23	100,00

Як видно з даних таблиці 2, продуктивність рослин інбредних ліній була нижчою, ніж у рослин сорту-стандарту Ярославна, чого і слід було очікувати. Адже у ліній восьмого покоління дія інбредної депресії проявляється і на урожайність насіння, і на урожайність кормової маси, хоча у тетраплоїдній люцерни зниження урожайності є значно повільнішим, ніж у диплоїдних рослин.

Найвищу продуктивність кормової маси мають рослини зразків № 25, № 29–80,48 % та 78,04 % до стандарту відповідно. За урожайністю насіння найкращими були зразки № 57–103,46 % до стандарту, № 32–98,20 % та № 36–95,00 %.

Інбредні лінії це — вихідний матеріал для подальшого використання в селекційному процесі. Наступним етапом їх вивчення повинно бути з'ясування рівня загальної комбінаційної здатності. Найкращі за рівнем загальної комбінаційної здатності лінії можуть бути використані для створення сортів-синтетиків, таких, яким є сорт Ярославна.

Після проведення схрещування 7 відібраних ліній за повною діалельною схемою був зроблений аналіз за Гриффінгом.

Певні гібридні комбінації показали надзвичайно високий рівень самосумісності — лінія 58/Еврика 1– 77 %, лінія 38/лінію 12–82,2 %, лінія 38/лінію 27– 67,0 %. Інші гібриди показали також високий рівень самосумісності, і лише в деяких комбінаціях за участю ліній 12 та 27 спостерігався відносно низький рівень самосумісності, що можна пояснити реципронним ефектом, а також специфічною взаємодією різних типів плазми.

Ефекти загальної комбінаційної здатності дають змогу виділити лінії, одержані з сортів Альфа і Феракс як перспективні для створення сортів синтетиків з високими показниками самосумісності (табл.3). Необхідно відмітити наступні комбінації: лінія 28/Еврика 1, Еврика 1/лінію 27, лінія 4/лінію 38, лінія 4/Еврика-10, які рекомендуємо використовувати при створенні гібридів з високою самосумісністю. В комбінаціях з мінусовими значеннями СКЗ велику роль відіграв реципронний ефект.

Таблиця 3

Ефекти СКЗ за рівнем самосумісності

Батьки	Л.4	Л.58	Л. 38	Л. 12	Еврика 1	Еврика 10	Л. 27
Л. 4	16,69	-6,41	10,18	-15,82	-4,89	9,00	-8,75
Л. 58		-9,08	5,18	5,42	17,78	-7,40	-5,49
Л. 38			-15,47	7,60	-3,11	-6,16	1,78
Л. 12				1,77	-1,97	7,55	-4,54
Еврика 1					-12,02	-5,58	9,80
Еврика 10						-2,35	4,96
Л. 27							2,24

При вивченні ознак, що характеризують насіннєву продуктивність рослини, найбільшу увагу приділяють результуючий ознаці — маса насіння з однієї рослини. Ефекти загальної комбінаційної здатності були високими у ліній 12 (23,7) та 4 (17,4). Отже, лінії 12 та 4 доцільно використовувати при створенні сортів — синтетиків.

Високими показниками специфічної комбінаційної здатності характеризуються гібридні комбінації: лінія 4/лінійю 12 (5,96), лінія 10/лінійю 27 (7,16). Дещо нижчими, але також високими показниками СКЗ характеризуються комбінації: лінія 58/лінійю 4, лінія 4/лінійю 38, лінія 58/лінійю 38, лінія 12/Еврика 1, лінія 58/Еврика-10, лінія 38/лінійю 27, лінія 12/лінійю 27 (табл. 4). Варто відмітити комбінацію лінійю 12/лінійю 4, яка характеризується найвищими показниками у обох напрямках схрещування.

Таблиця 4

Ефекти СКЗ за ознакою «маса насіння з рослини»

Батьки	Л.4	Л.58	Л. 38	Л. 12	Еврика 1	Еврика 10	Л. 27
Л. 4	-8,74	1,11	1,62	5,96	-1,09	0,94	0,20
Л. 58		-1,71	1,93	0,36	0,71	1,18	-3,58
Л. 38			-1,91	-2,34	-0,38	-0,01	1,09
Л. 12				-2,05	2,20	-5,27	1,13
Еврика 1					-0,10	-1,41	0,06
Еврика 10						-2,59	7,16
Л. 27							-6,06

Гібриди лінійю 58/лінійю 4 (22,95), Еврика-10/лінійю 4 (22,03), лінійю 12/лінійю 58 (21,70), лінійю 4/лінійю 38 (22,53), лінійю 12/лінійю 38 (22,78), лінійю 12/Еврика 1 (24,85), лінійю 58 x Еврика-10 (22,10), лінійю 27/Еврика-10 (24,50) мають високі рівні СКЗ і високі показники продуктивності, тому їх доцільно використовувати як вихідний матеріал в гетерозисній селекції люцерни.

Висновки

1. В селекційній роботі з люцерною посівною для підвищення рівня самофертильності доцільно використовувати лінії № 38, Еврика 1 та № 58, які мають високу загальну комбінаційну здатність при високих рівнях самосумісності.

2. Комбінації лінійю 28/Еврика 1, Еврика 1/лінійю 2, лінійю 47/лінійю 38, лінійю 4/Еврика-10 показали високий рівень СКЗ, а комбінація лінійю 38/лінійю 12 мала найвищий показник самосумісності (82%), тому їх слід використати при створенні гетерозисних гібридів люцерни з високим рівнем самосумісності.

3. За ознакою „число насінин в бобі” виділені лінії № 58 та Еврика 1, які мають високі ефекти ЗКЗ — 1,82 та 0,72 відповідно, і можуть використовуватись в якості компонентів сортів-синтетиків. Аналіз ефектів специфіч-

ної комбінаційної здатності за даною ознакою дозволив виділити комбінації ліній 4/лінійю 38, Еврика1/Еврика-10, лінія 58/Еврика 1, лінія 38/лінійю 27, лінія 38/лінійю12 саме в такому напрямку схрещування, для використання в якості компонентів при створенні гетерозисних гібридів.

4. За показником маси насіння з рослини виділені лінії № 12 та № 4, що мали високі показники ЗКЗ, тому їх рекомендується використовувати для створення сортів-синтетиків. Вивчення СКЗ показало, що комбінації ліній 4/лінійю 12, Еврика-10/лінійю 27 мали високий прояв ефекту по даній ознаці, причому комбінація ліній 12/лінійю 4 виявляє надвисоку продуктивність по ознаці «маса насіння з рослини» в обох напрямках схрещування. Тому дані лінії необхідно використовувати як компоненти при створенні високопродуктивних сортів — синтетиків люцерни.

Література

1. *Лихочвор В. В.* Рослинництво. — К., 2004. — С. 727–731.
2. *Бобер А. Ф., Носенко Ю. М.* Генетика ознак насіннєвої продуктивності люцерни посівної та можливості їх паралельного покращення селекційним шляхом / Селекція та генетика на межі тисячоліть. — К.: Логос. — 2001. — С. 244–251.
3. *Башикірова Н. В.* Створення високопродуктивних самофертильних ліній люцерни / 36. пр. ІЗ УААН. — К. — 1998. — С. 102–104.
4. *Башикірова Н. В., Новак Т. В.* Експериментальні зміни в системі розмноження люцерни посівної від алогамії до автогамії // Вісник Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. — 2005. — Т. 3. — № 1–2. — С. 21–25.
5. *Башикірова Н. В.* Самофертильність люцерни посівної як мутація гена несумісності та її практичне значення // Селекція та генетика на межі тисячоліть. — К.: Логос. — 2001, т. 3. — С. 264–268.
6. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта — М.: Агропромиздат. — 1985. — 352 с.

Резюме

Проведена гібридизація семи інбредних ліній люцерни восьмого покоління по повній діалельній схемі. Встановлено, що лінії Альфа-38, Вертус-72 та Ферракс-28 відзначаються високою комбінаційною здатністю по рівню самофертильності, лінії Ферракс-28, Альфа-38 та Еврика-1 — по признаку «число семян в бобе», лінії Альфа-12 та Зигуен-4 — по показателю маси семян с растения. Эти лінії рекомендується використовувати при створенні сортів-синтетиків.

Проведена гібридизація семи інбредних ліній люцерни восьмого покоління за повною діалельною схемою. Встановлено, що лінії Альфа-38, Вертус-72 та Ферракс-28 мають високу загальну комбінаційну здатність за рівнем самофертильності, лінії Ферракс-28, Альфа-38 та Еврика 1 — за ознакою «число насінин в бобі», а лінії Альфа-12 та Зигуен-4 — за показником маси насіння з рослини. Ці лінії рекомендується використовувати при створенні сортів-синтетиків.

Hybridization of seven inbred lines of eighth generation of alfalfa due to full diallel scheme was carried on. Lines Alfa-38, Vertus-72 and Ferax-28 have high general combinative ability on self-fertility level, lines Ferax-28, Alfa-38 and Evrika 1 — on the feature ‘number of seeds in a pod’, and lines Alfa-12 and Ziguen-4 — on the index of seed mass from a plant was established. These lines are recommended to be used in the forming of synthetic varieties.

НОВІ СОРТИ ГРЕЧКИ — МАЛИНКА, КВІТНЕВА ТА ПЕРЛИНА ПОДІЛЛЯ

Гречка — це культура різностороннього використання та безвідходної технології вирощування. Цінність гречки обумовлена її унікальними харчовими і лікувально-дієтичними властивостями. Гречана каша є однією із найбільш корисних і цінних, яка містить надзвичайно важливі поживні для організму людини речовини: повноцінний білок (12,6%), жири, вуглеводи, харчові волокна, органічні кислоти, а також кальцій, фосфор, йод, вітаміни B₁ і B₂, РР (рутин, який отримують промисловим способом із гречаних круп), солі заліза, лимонну і яблучну кислоти — каталізатори засвоєння їжі. Середній хімічний склад гречки: вода — 14%, білки — 11,6; вуглеводи — 59,5, зокрема, крохмаль — 54,9; жири — 2,3; клітковина — 10,8; зола — 1,8% [1].

У складі золи виявлені такі елементи як калій, магній, натрій, мідь, срібло, цинк, кальцій, йод, алюміній, марганець, залізо, нікель, хром, фосфор, кобальт. Їх кількість залежить від сорту гречки та частини рослини (плодові оболонки або солома). Фолієва кислота, що міститься у гречці, підвищує витривалість і опірність організму хворобам, допомагає у лікуванні шлунково-кишкових захворювань. Гречка підтримує здоровою печінку, сприяє зниженню підвищеного вмісту цукру в крові та лікуванню анемії, лейкемії, зміцненню імунної системи, поліпшенню кровообігу, зниженню рівня «шкідливого» холестерину.

Культура має у своєму складі речовини, які зв'язують і виводять з організму радіонукліди. Так само, як у рисі, кукурудзі, в гречці немає глютену, тому її можна вживати в їжу хворим на целиакію. За глікемічним індексом гречану крупу відносять до помірно корисних продуктів харчування.

У гречці міститься рекордна кількість біофлавоноїду кверцитину — 8%. Дієта російського лікаря-онколога В. А. Ласкіна містить 300 грамів гречки, тобто 24 грами кверцитину за день, плюс кверцитин, що міститься у шипшині.

Біофлавоноїд кверцитин відновлює активність пошкодженого або порушеного у ракових клітинах гена р 53 або сам заміщує його функції. Ген р53 — ген-супресор ракових клітин — є одним із головних регуляторів в ядрі клітини, що контролює розкладення клітин. Кверцитин відновлює функцію гена р53, відновлюючи розкладення пухлинних клітин і приводячи їх до загибелі.

Канадські вчені з університету у Манітобі виявили у крупі гречки резовину хіро-інозітол, яка знижує рівень цукру (глюкози) у групі піддослідних тварин на 20 %.

Подальша невизначенність демографічної ситуації, глобальна зміна кліматичних умов, порушення екологічної рівноваги, зменшення запасів природних, зокрема енергетичних ресурсів, спонукають сучасне сільське господарство реагувати на демографічні та екологічні зміни збільшенням продовольчих запасів. Їх зростання можливе лише за рахунок створення нових більш урожайних сортів із цінними технологічними та біохімічними показниками якості зерна [3].

Матеріали і методи

Польові дослідження 2009–2011 рр. проводились у селекційній сівозміні Науково-дослідного інституту круп'яних культур Подільського державного аграрно-технічного університету. Селекційна сівозміна дослідного поля розміщена в південній Лісостеповій частині Хмельницької області, яка за теплозабезпеченістю та ступенем зволоження за вегетаційний період відноситься до південного теплого агрокліматичного району.

Ґрунти сівозміни — чорноземи глибокі малогумусні, середньовилугувані на карбонатних лесовидних суглинках.

Перспективні гібридні номери вивчали в попередньому та конкурсному сортовипробуваннях з посівною площею 31,5 м² та обліковою 25 м² в трьох (ПС) та чотирьох (КС) повтореннях.

Нами проводилось вивчення нових сортів гречки, створених методом гібридизації з урахуванням ступеня фенотипового домінування та коефіцієнтів успадковування. Сорти створено методом гібридизації на основі використання зразка колекції генофонду гречки *Fagorutum Mill* (№ 4013) з високоврожайними районованими сортами: Українка, Роксолана, Казанка.

Стандарт висівали через 10 номерів. За стандарт в усіх розсадниках прийнято сорт Вікторія, занесений до Реєстру сортів рослин України. Закладку дослідів, оцінку матеріалу, аналіз рослин урожаю та якості зерна проводили відповідно до загальноприйнятої методики державного сортовипробування [5]. Матеріал вивчався в умовах екранної ізоляції, створеної за допомогою тетраплоїдної форми гречки.

Біохімічний аналіз зерна нових сортів виконано в сертифікованому Хмельницькому обласному державному проектно-технологічному центрі охорони родючості ґрунтів і якості продукції.

Метод визначення азоту і сирого протеїну — ГОСТ 1349.6.4–84; метод визначення сирій клейковини — ГОСТ 1349.6.2–84; метод визначення сирого жиру — ГОСТ 1349.6.15–85; метод визначення сирій золи — ГОСТ 26226–84; метод визначення загального фосфору — ГОСТ 26657–85; метод визначення загального кальцію — ГОСТ 26570–85; метод визначення загальної вологи — ГОСТ 27548–87; загальноприйняті методики визначення вмісту мікроелементів: міді, цинку, марганцю, кобальту.

Результати та обговорення

Результати наших досліджень свідчать про те, що тривалість вегетаційного періоду нових сортів складає 87–93 доби. Коротка характеристика сортів: сорт Малинка (№ 4013 × Українка), сорт Перлина Поділля (№ 4013 × Роксолана), сорт Квітнева (Казанка × № 4013) підвид вульгаре, різновидність алята. Диплоїдні сорти. Рослини індетермінантного типу росту. Антоціанове забарвлення сім'ядоль слабе, основне забарвлення зелене. Сім'ядолі дрібні, ниркоподібні, гіпокотиль — середній. Листкова пластинка хвиляста, стріловидна, має зелене забарвлення, середня за розміром, тонка за товщиною у сорту Перлина Поділля і середня — сорту Квітнева. Квіти білі, середні за розміром у сорту Квітнева; крупні у сорту Перлина Поділля; оцвітнина розміщена відокремлено, форма листочків оцвітнини — видовжена. У сорту Квітнева квіти з сильним ароматом. Пагони мають фрагментарне слабкої інтенсивності антоціанове забарвлення; у сорту Перлина Поділля забарвлення майже суцільне. Забарвлення вузлів — світло-зелене, зелене перші два мають середнє та сильне опушення. Масове цвітіння настає через 26–32 доби. Рослини високі вище 100–110 см. Довжина зони галузнення — 31–40 см, зони плодоутворення — більше 71 см. Кількість вузлів у зоні галузнення більше 4. Фоновий колір оплодня під час дозрівання — світло-сірий із наявною мармуровістю без воскового нальоту. Плід — ромбічний, з малими крилами, ребра — гострі, грані — опуклі, верхівка — гостра, основа ледь виражена. Маса 1000 зерен більше 30 гр., вирівняність — 86,2–94,2 %, плівчастість — 23–27 %.

Найвищу масу 1000 зерен має сорт Перлина Поділля через наявність у його складовій крупноплодного сорту Роксолана.

Урожайність зерна досліджуваних сортів коливалася в межах від 1,1–1,9 т/га (табл. 1).

Таблиця 1

Урожайність та технологічні показники якості зерна нових сортів гречки

Сорти	Вегетаційний період, дб	Урожайність, т/га	± до St.	Технологічні показники якості зерна		
				маса 1000 зерен, г	вирівняність, %	плівчастість, %
Вікторія — St.	91	1,1	-	26,3	80,4	22,3
Малинка	87	1,9	0,8	30,5	86,2	23,7
Квітнева	91	1,7	0,6	30,1	89,6	23,5
Перлина Поділля	93	1,5	0,4	31,8	94,2	25,3

За фракційним складом зерна нові сорти відносяться крупних за вирівняністю, найбільший схід із двох суміжних решіт спостерігається за діаметром 5,0 та 4,5 мм. Середнім за вирівняністю є сорт Малинка, найбільших схід із двох суміжних сит за діаметром отворів 4,5, 4,2 мм.

Нові сорти характеризуються вищим в порівнянні зі стандартом вмістом білка та макро- і мікроелементів.

За кількістю білка сорти (Квітнева, Малинка) містили їх на рівні стандарту — 11,88 % і лише у сорту Перлина Поділля вміст був вищий на 0,43 % (табл. 2).

Таблиця 2

Біохімічна цінність нових сортів гречки

Сорт	Білок, %	Жир, %	БЕР, %	СаО, %	P ₂ O ₅ , %	Вміст, мг/кг			
						міді	ко- баль- ту	мар- ганцю	цин- ку
Вікторія — St.	13,63/11,88	2,39/2,08	56,44	0,17/0,15	0,3/0,26	5,26	1,8	7,38	1,8
Малинка	13,56/11,94	2,00/1,76	56,80	0,19/0,17	0,33/0,29	5,32	1,7	6,2	1,7
Квітнева	13,50/11,88	1,81/1,59	55,94	0,20/0,18	0,33/0,29	4,79	1,1	6,28	1,1
Перлина Поділля	14,0/12,31	2,08/1,83	56,89	0,18/0,16	0,31/0,27	4,15	1,2	6,14	1,2

Примітка: показники, подані у графі через дріб: чисельник — вміст у сухій речовині, знаменник — вміст в натуральній речовині.

Другою важливою поживною речовиною є вуглеводи, які переважають у кількісному відношенні (для зернових культур становлять 66–82 % всієї маси зерна). Основним вуглеводом є крохмаль, при його розщепленні в організмі виділяється енергія (1 г крохмалю — 4,1 ккал.). Вуглеводи і жири виконують, головним чином, енергетичну функцію в харчуванні, білки і солі — пластичну, а вітаміни — каталітичну. Вміст безазотистих екстрактивних речовин в усіх сортах, окрім Квітневої, переважає стандарт на 0,45–3,16 % [2].

У зерні досліджуваних зразків міститься невелика кількість жирів, які виконують енергетичну функцію. За вмістом жиру жоден із досліджуваних сортів не перевищив стандарт.

Безумовно, наявність в зерні значної кількості ряду вітамінів, макро- і мікроелементів свідчить про велику роль останніх у визначенні харчової (кормової) цінності даного харчового продукту. Встановлено, що за рахунок зерна людина отримує більше 60 % вітамінів групи В (В₁, В₂, РР) і близько 80 % вітаміну Е [4].

Сорти Малинка, Квітнева характеризуються високим вмістом СаО. За вмістом Р₂О₅ усі сорти перевищували стандарт на 0,01–0,04 %.

За вмістом міді лише один сорт (Малинка) перевищив стандарт, решта сортів містили меншу міді від 4,15 до 4,79 мг/кг.

Вміст кобальту у досліджуваних сортах коливався в межах 1,1 мг/кг у сорту Квітнева до 1,8 — у стандарту.

Високий ферментативний діяльності при споживанні крупи сприятиме наявність у сортах марганцю від 6,14 до 7,38 мг/кг.

За вмістом цинку жоден із сортів не переважає сорт-стандарт. Значну його кількість містить лише сорт Малинка [2].

Висновки

Нові сорти гречки створені методом гібридизації на основі використання зразків колекції генофонду гречки *Fagorutum Mill* (№ 4013) з високоврожайними районованими сортами Українка, Роксолана, Казанка, переважають сорт-стандарт за урожайністю, технологічними і біохімічними показниками якості зерна. За результатами випробування на сортодільницях Державної служби охорони прав на сорти рослин нові сорти визнано новими, однорідними і стабільними та занесені до реєстрів сортів рослин України 2010, 2012 рр. Нові сорти гречки Малинка, Квітнева та Перлина Поділля розраховані на сільськогосподарські підприємства різних форм власності та фермерів, які вирощують цю цінну круп'яну культуру.

Література

1. Алексеева О. С., Тараненко Л. К., Малина М. М. Генетика, селекція і насінництво гречки: Навч. посіб. — К.: Вища шк., 2004. — 213 с.
2. Вільчинська Л. А. Вплив гібридизації на зміну якісних показників зерна гречки // 36. наук. праць. — Біла Церква, 2008. — Вип. 52. — С. 160–163.
3. Іван Шувар Воно врятує//Агробізнес сьогодні газета підприємців АПК № 6 (205) березень 2011. — С. 32–35.
4. Левицкий А. П. Химические и биологические методы определения пищевой (кормовой) ценности зерна//Биохимические методы исследования селекционного материала: Сб. науч. тр. Выпуск XV. — Одесса. — 1979. — С. 5–14.
5. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. — Вип. 2. — М., 1989. — С. 3–25.

Резюме

Наведено результати випробування та переваги нових сортів гречки Малинка, Квітнева, Перлина Поділля над сортом-стандартом Вікторія. Нові сорти характеризуються підвищеною урожайністю, покращеними технологічними та біохімічними показниками якості зерна. Рекомендовані для вирощування у сільськогосподарських підприємствах різних форм власності.

Приведены результаты испытания и преимущество новых сортов гречихи Малинка, Квитнева, Перлына Подиля в сравнении с сортом-стандартом Виктория. Новые сорта имеют высшую урожайность, улучшенные технологические и биохимические свойства качества зерна. Данные сорта рекомендованы для выращивания в сельскохозяйственных предприятиях разных форм собственности.

The results of investigation and advantages of new buckwheat sorts such as Malynka, Kvitneva, Pearl of Podillya in comparison with the sort-standart Victoria have been shown here. The new sorts have higher crop capacity, improved technological and biochemical properties of grain quality. These sorts have been recommended for growing different forms of property in agricultural enterprises.

**ВИРОВЕЦЬ В.Г.¹, ЛАЙКО І.М.¹, ЩЕРБАНЬ І.І.¹, СИТНИК В.П.¹,
КИРИЧЕНКО Г.І.¹, ГОРШКОВА Л.М.²**

¹ Дослідна станція луб'яних культур Інституту сільського господарства
Північного Сходу України НААНУ,

Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул., Терещенків, 45, e-mail: ibc@ukrtel.net

² Глухівській національний педагогічний університет імені Олександра Довженка,
Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул., Києво-Московська, 24,
e-mail: gdpu@sm.ukrtel.net

ПРІОРИТЕТ УКРАЇНСЬКИХ ВЧЕНИХ В СЕЛЕКЦІЇ НЕНАРКОТИЧНИХ КОНОПЕЛЬ

Коноплі є однією із стародавніх рослин, які супроводжують людину на всіх етапах її розвитку, хоча за господарським призначенням їх не можна прирівняти ні з пшеницею, ні з рисом. Але завдяки своїм особливостям коноплі залишаються однією з затребуваних культур. Здавалось би, що в період індустріального буму вони втратили своє призначення. Але виявилось, що в часи енергетичної кризи попит на продукцію із конопель не зменшився, а навпаки зростає в таких галузях як легка, будівельна та харчова промисловість, авто- та літакобудування, виготовлення парфумерних виробів, ліків тощо.

За визначенням експертів деяких міжнародних фірм коноплі стають однією з головних культур світу XXI століття, враховуючи їх здатність накопичувати велику органічну масу у вигляді стебел, волокна та насіння. В колишніх колективних господарствах це була одна з найприбутковіших культур: займаючи біля 10% площ, вони давали до 50% прибутків від усієї галузі рослинництва.

В цілому ж господарське використання конопель набуло значних змін, які віддзеркалюють стан попиту на їх продукцію залежно від рівня технічного прогресу суспільства. Поступовий перехід від парусно-вітрильного до парового і дизельного флотів зумовив скорочення потреб у волокні для парусини і канатів, що призвело до зменшення посівів, які ще впродовж тривалого часу залишались значними майже до середини XX сторіччя. В окремі роки коноплі в колишньому СРСР займали до 1 млн га, або більше 80% від усіх європейських площ. На початок 60-х років минулого століття посівна площа складала біля 300 тис. га, в тому числі на Україну приходилось до 140 тис. га. На сьогодні внаслідок останніх змін в сільському господарстві, а також обмежуючих заходів з боку правоохоронних органів щодо обов'язкового ліцензування та охорони, площа посівів скоротилась до тисячі гектарів. Посіви конопель в Європі зараз складають біля 15 тис. га. Найбільше їх висіває Франція. Дещо менше став сіяти Китай, хоча в 2007 році там було 20 тис. га.

В протилежність багатьом культурам коноплі не обмежені певною географічною територією, вони розповсюджені по всьому світу. При цьо-

му під дією кліматичних умов певних регіонів відбулись зміни в морфології і біології рослин. Залишаючись повсюдно лубоволокнистою рослиною, за способом використання в окремих регіонах стали суттєво відрізнятися, що, на нашу думку, і стало основною підставою для поділу їх на два види. До цих пір ще немає єдиної думки про родову (родинну) належність конопель. Багато дослідників відносять коноплі разом з хмелем до родини *Cannabinaceae* (коноплеві), інші — до *Moraceae* (тутові) чи *Urticaceae* (крапивові) [1]. Зараз прийнято ділити коноплі на два види: *Cannabis sativa* L. і *Cannabis indica* L. При цьому в останні роки в іноземній літературі стали з'являтися пропозиції на визнання 4-х різновидностей, які торкаються більше індійських конопель стосовно їх наркотичної активності [2].

Коноплі не можна обмежити певними кордонами, бо на величезній території СНД є багато місць для їх зростання, що в цілому може складати значні площі. До них можна віднести 138 тис. га дикорослих конопель по долині ріки Чу, яка протікає територіями Киргизії і Казахстану [3]. Або взяти такі регіони як Далекий Схід, Сибір, Бурятію і Хакасію, де разом взяті площі складають близько 1 млн га дикорослих конопель. Враховуючи це, можна припустити, що в країнах колишнього СРСР запаси можливої наркосировини не менші ніж в державах «Золотого трикутника» (Бірма, Таїланд і Лаос) чи «Золотого напівмісяця» (Афганістан, Іран, Пакистан) [3].

Як видно, коноплі легко пристосувались до різних кліматичних умов від Північного до Південного полюсів, але, не дивлячись на їх широке розповсюдження основні маси посівних конопель в колишньому СРСР зосереджені в межах 45–55° північної широти [4]. Дикі ж коноплі розповсюджені повсюдно як інтергеографічний тип, вони не мають господарського значення, а скоріше є бур'яном, які інколи, виходячи з назви «коноплі», дехто пробує використовувати для куріння.

Передумови селекції на ненаркотичність посівних конопель. На протязі багатьох віків відбулась стабілізація у використанні конопель. В європейській частині світу їх використовували як волокнисту культуру, де в умовах різкоконтинентального клімату в стеблах утворювалось високоякісне волокно і формувався найбільший врожай насіння. У селян призначення конопель не викликало ніяких сумнівів, хоч про «чарівні» особливості їх було відомо давно [5]. Коноплі стали однією з найулюбленіших культур, про що свідчать численні пісні, перекази, прислів'я тощо, які зберігаються до сьогодні.

Але в післявоєнні роки внаслідок поступової урбанізації, розвитку туризму, міграції і зростання незайнятості молоді тощо, все частіше стали траплятися окремі випадки застосування посівних конопель в якості наркотичної сировини. Як відомо, захоплення наркоманією приводить до фатального кінця. Причини такого трагізму інколи вбачали у наявності виробничих посівів конопель і їх доступності, бо вони буцімто сприяють наркоманії і які в першу чергу слід ліквідувати.

Як вихід із складної ситуації, яка дійсно стала турбувати суспільство, був задіяний новий напрямок селекції щодо створення ненаркотичних сортів конопель, вирощування якого не мало аналогів у світовій практиці. Все це створювало величезні труднощі як в методичному, так і в науковому аспектах, що навіть породжувало невіру у вирішенні цієї проблеми. Але наявність окремих разючих прикладів у світовій класичній селекції з створення кормового (солодкого) люпину, тютюну з низьким вмістом нікотину, шпинату з низьким вмістом оксалатів тощо вселяли впевненість у вирішенні незвичайного до цього часу завдання, спираючись на закон академіка М. І. Вавилова про гомологічні ряди в спадковій мінливості.

Селекційна робота розпочалась у 1972 році у відділі селекції і насадництва конопель на той час Всесоюзного науково-дослідного інституту луб'яних культур і контролювалась трьома Міністерствами СРСР (сільськогосподарства, внутрішніх справ і охорони здоров'я), які безпосередньо звітували Академії наук і ЦК компартії. Про нагальність вирішення цієї проблеми в інституті свідчить хоч би й такий факт, що крім щорічних наукових звітів інформацію про хід роботи подавали кожну десятиденку і в місцеві партійні органи.

Канабіноїди, як специфічні речовини, та методи їх визначення. Відомо, що наркотичні речовини конопель містяться в смолоподібній масі, яка виділяється залозистими волосками, і представляє собою гашиш — складну суміш різних канабіноїдів. Слова (поняття) «гашиш» і «марихуана» часто вживаються як синоніми. Під гашишем в основному розуміють смолу, а марихуаною — рослинну частину (суміш листя і квіток). Починаючи селекцію на зниження вмісту канабіноїдів, ми володіли досить обмеженою інформацією про їх природу, локалізацію в рослині, методи визначення, залежності від різних чинників тощо. Наркотична речовина — гашиш — містить такі основні канабіноїди як канабідіол (КБД), тетрагідроканабінол (ТГК), канабінол (КБН) і канабідіолову кислоту (КБДК). Найбільш висока токсичність характерна для ТГК і його ізомерів [6]. Канадські дослідники виділяють 426 компонентів канабіноїдів, із яких 62 представляють видозміни ТГК. Усі вони близькі і відносяться до однієї групи природних фенолів [7].

Установлено, що ці речовини наявні в усіх частинах рослин, а також у насінні та коренях. Але максимальна їх кількість зосереджена в дрібних листках суцвіття й оцвітіння, які мають найбільше залозистих волосків порівняно з іншими органами рослини. Наявність головного галюциногену — дельта ТГК — виявлено також в усіх органах рослину упродовж усього періоду вегетації, але його кількість поступово зменшується від квіток, листків і черешків до насіння і коренів.

Багатьма дослідниками встановлено, що накопичення канабіноїдів в рослинах конопель визначається генетичними і еколого-географічними чинниками. Серед другої групи виділяється температура, сонячна радіація,

вологість, поживний режим тощо. Але вирішальними факторами, які визначають вміст канабіноїдів, є сортові ознаки. Кількісна ж величина канабіноїдів змінюється залежно від просування сортів з північного заходу на південний схід.

Одночасно при категоричних обов'язкових вимогах до вирішення проблеми були створені сприятливі умови для проведення перших кроків у дослідженнях як з боку Всесоюзної Академії сільськогосподарських наук імені В.І. Леніна, так і Головного управління бавовництва і луб'яних культур Міністерства сільського господарства СРСР та ВНДІ МВС в питаннях забезпечення лабораторним обладнанням та його освоєння, матеріалами тощо.

Досить відповідальною складовою в цій роботі виявилось освоєння і удосконалення методики визначення вмісту канабіноїдів в посівних коноплях з метою розгортання селекції в даному напрямку, оскільки вся подібна інформація в зарубіжній літературі торкалась апробації загальної наркотичної дії зразків, які вилучались поліцією в різних державах. Розпочинаючи селекційну роботу в даному напрямку, за основу був використаний напівкількісний метод тонкошарової хроматографії, який застосовували російські вчені М. Кисін і Є. Сьомкін [8]. Пізніше цей метод нами був удосконалений з метою отримання більш точних даних і збільшення кількості аналізів. На завершальних етапах селекції використовували метод кількісного визначення канабіноїдів на газорідних хроматографах типу Хьюлетт-Паккард 5830 або Хром 5. Контроль ефективності селекції на зниження психоміметичної активності зразків конопель проводили на біологічних об'єктах.

З набуттям досвіду селекції і зростанням вимог виникала потреба в пошуку нових або вдосконалення класичних методів. Один із них базувався на модернізації контролюючого добору на зниження вмісту канабіноїдів, яким виключалась би випадковість перезапилення рослин в популяції. В результаті тривалих досліджень вдалось розробити експрес-метод якісної оцінки рослин на наявність або відсутність канабіноїдів, який дав змогу значно збільшити обсяг аналізів і поліпшити гомозиготність популяції за даною ознакою, запровадивши вилучення негативних рослин до цвітіння в польових умовах. Усі розробки лягли в основу удосконаленої методики селекції на зниження вмісту канабіноїдів, якою передбачається індивідуальна оцінка рослин за комплексом ознак з одночасним контролем за стійкістю до пошкодження шкідниками і хворобами [9].

Сучасні результати і перспективи селекції. Створення любого сорту починається з вивчення наявного генофонду, який можна було б використати в якості вихідного матеріалу. На той час плідно працювали на договірних умовах з всесвітньо відомим Всесоюзним науково-дослідним інститутом рослинництва (тепер — Інститут рослинництва ім. академіка М.І. Вавилова, Санкт-Петербург, РФ), в якому на той час знаходилась найбільша

у світі колекція зразків конопель. Як за даними співробітників інституту [10], так і нашими результатами (табл. 1) вміст канабіноїдів був досить різним, але серед всіх зразків не було виявлено жодного з повною їх відсутністю.

Таблиця 1

Вміст канабіноїдів в сортах і гібридах конопель (Інститут луб'яних культур, 1976 рік)

№ п/п	Сорт, гібрид	Вміст канабіноїдів, %		
		КБД	ТГК	КБН
1	ЮСО-1	4,273	0,775	0,147
2	ЮСО-4	4,290	0,630	0,223
3	ЮС-6	4,493	1,961	0,258
4	ЮС-8	5,333	0,736	0,158
5	ЮС-9	4,808	1,780	0,234
6	СОУ	4,564	1,340	0,358
7	Єрмаківські місцеві	5,133	0,720	0,344
8	Глухівські 10	4,468	0,529	0,144
9	Глухівські жовті	4,817	0,890	0,233
10	ЮС-12	4,790	2,326	1,070
11	ЮСО-19	4,679	0,315	0,170
12	ЮС-22	4,351	1,206	0,434
13	ЮСО-23	4,676	0,452	0,170
14	(Сегеді 9 х Глухівські 10) х ЮСО-1	4,234	0,271	0,196
15	(ЮС-22 х ЮСО-1) х ЮСО-25	3,376	0,376	0,503
16	(ЦС х Глухівські 10) х ЮСО-1	4,769	0,726	0,189
17	ЮС-9 х Білобжеські	5,419	0,504	0,206
18	ЮС-9 х ЮСО-1	4,913	1,258	0,299

Виділені ж окремі зразки із колекції зі зниженим вмістом ТГК потребували значного селекційного удосконалення, перш ніж можна було б їх використовувати у виробництві, оскільки вміст волокна у них був близький до рівня диких конопель (9–11 %), з низьким врожаєм стебел (соломи) і насіння, дводомністю і тривалим періодом вегетації. Отримані ж гібриди між виділеними зразками і кращими на той час сортами необхідно було радикально змінювати за господарськими ознаками.

Внаслідок розгорнутої роботи з поліпшення селекційних сортів було досягнуто перших успіхів. При цьому зазначимо, що вимоги до сортів за вмістом канабіноїдів ставали більш жорстокішими. Якщо в 1973 році поріг вмісту ТГК для сортів, які планувались до передачі на державне сорто-випробування, був прийнятий до 0,3, то в 1980 році — 0,2, а з 1995 року — 0,15 %. Три перші сорти однодомних конопель ЮСО-14 (авторське свідоцтво № 2810, заявка № 3514, 14.08.1979), ЮСО-16 (авторське свідоцтво № 2811, заявка № 3515, 14.08.1979) та Дніпровські однодомні 6 (авторське свідоцтво № 2809, заявка № 3512, 13.08.1979), які були районовані в різних

зонах коноплярства з 1980 р. з вмістом ТГК не вище 0,2%, стали переконливим доказом можливої селекції на повну елімінацію наркотичної дії посівних конопель. При цьому ці сорти значно перевищували стандарт за господарськими ознаками, а вміст волокна в стеблах наближався до 30%.

Селекціонери усвідомлювали, що доля сорту у виробництві буде залежати насамперед від його господарських показників. Сорт Дніпровські одностомні 6 (співавтор Синельниківська селекційна дослідна станція, яка на той час входила до складу ВНДІ кукурудзи), відносився до типу південних конопель, його районування на двобічне використання в коноплесіючих господарствах Північного Кавказу значно знизило напругу у 80-і роки стосовно використання посівних конопель, як наркотичного засобу.

Подальшу селекційну роботу було зосереджено на одностомних коноплях за багатьма напрямками, головними із яких було зниження наркотичної активності до повної відсутності канабіноїдів, підвищення продуктивності, поліпшення ознаки одностомності за найбільш продуктивним статевим типом на не менш жорстокому фоні збереження стійкості до пошкодження шкідниками і хворобами. Завдяки залученню нового селекційного матеріалу, а також застосування нових і удосконалених методів визначення канабіноїдів вдалося отримати якісно новий селекційний матеріал не тільки без ТГК, а й без інших компонентів канабіноїдів. На прикладі сорту ЮСО-45, у якого були відсутні залозисті волоски і відповідно специфічний конопляний запах зі збереженням високої волокнистості, насіннєвої продуктивності і здатності протистояти хворобам та шкідникам на рівні стандартів, було продемонстровано переконливу можливість виключення посівних конопель з списку наркотичних культур. Відсутність канабіноїдів є сортовою ознакою, яка не змінюється навіть під дією високих температур при вирощуванні в умовах Узбецької дослідної станції з кенафу.

Досягнення українських селекціонерів поступово стали надбанням світу шляхом обміну інформацією на міжнародних симпозіумах (Німеччина — 1995, 1997, 2000; Швейцарія — 1998; Канада — 1998), обміну науковими делегаціями (Угорщина, Польща, Румунія, Німеччина, Китай) та надання консультацій науковцям з Італії, Канади та Китаю. В 1996 році було проведено міжнародне випробування 13 сортів конопель із країн ЄС та України — ЮСО-14, ЮСО-31 і Золотоніські 11. Українські сорти виявились порівняно високоврожайними за волоком і насінням, відзначались швидкістю росту, а за низьким вмістом ТГК були унікальними. Завдяки цьому сорти ЮСО-14 та ЮСО-31 були зареєстровані в країнах ЄС; ЮСО-14, ЮСО-31, Золотоніські 11 та Золотоніські 15 — в Канаді. З 2003 року наша установа активно співпрацює з Французькою федерацією виробників конопель, з допомогою яких розповсюджує і реалізує елітне насіння ЮСО-31 в Європі, Америці та Канаді. Також тісні стосунки підтримуються з коноплярами Росії, які щорічно закупають елітне насіння сорту ЮСО-31. За останні роки селекціонерами В.Г. Вировцем, Л.М. Горшковою, І.М. Лайко,

І.І. Щербанем, В.П. Ситником, Г.І. Кириченко, Золотоніського відділу селекції — М.М. Орловим та Л.Г. Орловою, Синельниківської селекційно-дослідної станції — Р.Й. Каплуновою, В.П. Солодушко та М.М. Солодушком були створені, а Державною службою з охорони прав на сорти рослин занесені до державного Реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, наступні сорти однодомних конопель: Золотоніські 11 (1984), ЮСО-31 (1978), Дніпровські однодомні 14 (1995), Глухівські 33 (1997), Золотоніські 15 (1998), Глухівські 46 (1999), Синельниківські однодомні 3 (2001), Глера (2004), Гляна (2006) і Вікторія (2011). Ці сорти здатні формувати урожай стебел (соломи), волокна і насіння в межах 60–120, 17–25 і 6–12 ц/га. При цьому вміст канабіноїдів знижено майже за повної відсутності (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст канабіноїдів у сучасних сортах посівних конопель (селекційне сортовипробування на двобічне використання)

№ п/п	Сорт	Вміст канабіноїдів, %					
		КБД		ТГК		КБН	
		1996	1997	1996	1997	1996	1997
1	Єрмаківські місцеві*	—	0,492	—	0,299	—	0,109
2	ЮСО-14	0,024	0,210	0,001	0,009	0,001	0,005
3	Глухівські однодомні 18	0,043	0,025	0,041	0	0,001	0
4	Глухівські 46	0,014	0,102	0,011	0,003	0	0
5	Золотоніські 11	0,003	0,158	0	0,007	0	0,009

Примітка. * — селекційна робота з сортом Єрмаківські місцеві на зниження вмісту канабіноїдів не проводилась.

З 2011 р. занесено до Реєстру новий сорт однодомних посівних конопель Вікторія, який за продуктивністю не вступає стандартному сорту, але зовсім не містить не тільки ТГК, але й других компонентів канабіноїдів.

Висновки

1. В результаті багаторічної цілеспрямованої селекції була ліквідована небезпека можливого використання посівних конопель в якості наркотичної сировини. Урядове завдання про застосування селекції, як засобу боротьби з розповсюдженням наркоманії, слід вважати виконаним.

2. При створенні вперше в світі нових сортів посівних конопель з пониженням вмістом, а потім і з повною відсутністю канабіноїдів вдалося не тільки зберегти, а й значно підвищити їх продуктивність на фоні високої стійкості до пошкодження шкідниками і хворобами.

3. Нові селекційні сорти однодомних посівних конопель районовані не тільки в Україні і Росії, а також і в країнах ЄС, Канаді та Китаю. В державний Реєстр України з 2011 року занесено новий високопродуктивний сорт посівних однодомних конопель Вікторія, в якому відсутні не тільки ТГК, а й інші компоненти канабіноїдів.

4. На прикладі виведених сортів ненаркотичних посівних конопель створена оригінальна ботанічна різновидність, яка заслуговує на реєстрацію. Наявність цих сортів відкриває реальні можливості нейтралізації селекційним шляхом великих резервацій диких конопель, розповсюджених в різних країнах світу.

Література

1. *Серебрякова Т.Я.* Семейство *Cannabinaceae Lindl.*: Коноплевые / Т.Я. Серебрякова, И.А. Сизов // Культурная флора. — М.—Л.: Госсельхозиздат, 1940. — Т. 5: Пряильные. — С. 1—53.

2. *Вировец В.Г.* Создание высокопродуктивных сортов конопли, не обладающих наркотической активностью: автореф. дис. на соискание науч. степени докт. с.-х. наук: спец. 06.01.05 «Селекция и семеноводство» / В.Г. Вировец. — Глухов, 1992. — 42 с.

3. Аналитическая служба «КП». Наш наркостан. Превратится ли СНГ в содружество наркопроизводящих государств? // Комсомольская правда. — 1993. — № 75. — С. 2.

4. *Храмченко Г.И.* Систематическая характеристика конопли / Г.И. Храмченко // Биология конопли: труды ВНИИК. — К.—Х.: Держсільгоспвидав, 1935. — Вып. 8. — С. 9—21.

5. *Пузанов М.А.* Конопля и её продукты / М.А. Пузанов. — М.: Императорское Московское общество сельского хозяйства, 1870. — Вып. 5.

6. *Лазурьевский Г.В.* Каннабиноиды / Г.В. Лазурьевский, Л.А. Николаева. — Кишинев: Штиинца, 1972. — 68 с.

7. *Лушикова А.* Коварство марихуаны (по материалам канадок. журн. «Наркотики» // Мед. газета. — № 47. — 17.06.1992. — С. 3.

8. Изучение зависимости содержания основных каннабиноидов от сорта конопли / М.В. Кисин, Е.П. Семкин, И.М. Журавлева [и др.] // Проблемы экспертного исследования наркотических веществ: тезисы докл. науч. конф. (14—16 мая 1974 г.). — Алма-Ата, 1974. — С. 46—47.

9. Методические указания по селекции конопли на снижение содержания каннабиноидов; подгот.: В.Г. Вировец, Л.М. Горшкова, Г.И. Сенченко, М.М. Сажко / ВАСХНИЛ. — М., 1985. — 14 с.

10. *Захарова Н.С.* Содержание каннабиноидов в коллекционных образцах конопли: автореф. дис. на соискание научной степени канд. биол. наук: спец. 03.094 «Ботаника» / Н.С. Захарова. — Л., 1973. — 24 с.

Резюме

40 років виповнюється з початку наукової роботи по створенню перших ненаркотичних сортів посівних конопель, коли селекція була застосована як захід боротьби з розповсюдженням наркоманії. Створена нова різновидність конопель, у яких при практичній відсутності канабіноїдів збережена висока продуктивність та стійкість до пошкодження шкідниками та хворобами.

40 лет прошло с начала успешной научной работы по созданию первых ненаркотических сортов посевной конопли, когда селекция была использована как средство борьбы с распространением наркомании. Создана новая разновидность конопли, у которой при практическом отсутствии каннабиноидов не только сохранена, но и повышена продуктивность на фоне стойкости к поражению вредителями и болезнями.

40 years are passed from the beginning of scientific work on creation of the first drug-free industrial hemp varieties, and then breeding was used as a method of fighting against drug addiction. New industrial hemp variety, which is drug-free and has increased productiveness in the field of stability to pests and diseases, is created.

ВОЖЕГОВА Р.А.

Інститут зрошуваного землеробства НААН України,

Україна, 73483, м. Херсон, смт. Наддніпрянське, e-mail: izpr_ua@mail.ru

СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ СТІЙКОСТІ РИСУ ДО ПІРИКУЛЯРІОЗУ

За зведеними даними S. H. Ou` [1] рослини рису уражуються 74 хворобами, у тому числі 24 — вірусними та мікоплазматичними, 6 — бактеріальними, 37 — грибними, 6 — нематодними і 4 — фізіологічними. Навіть за наявності високоефективних фунгіцидів і добре розроблених агротехнічних заходів найбільш результативним методом боротьби з хворобами залишається створення і використання стійких сортів [2]. Але розмаїття збудників хвороб, а також рас і штамів окремих патогенів не дозволяє дійти висновку про однозначну стійкість сортів різних сортозамін. Один і той же сорт за вирощування його в різних умовах може уражуватися у різній мірі.

Найбільш поширеною хворобою рису в умовах півдня України є пірикуляріоз, збудником якого є недосконалий гриб *Piricularia orisae* Cav. Спеціальними фітопатологічними обстеженнями науковими співробітниками лабораторії захисту рослин Інституту рису НААН України встановлено, що різні патологічні симптоми на рослинах рису починають виявлятися з фази проростання до фази молочно-воскової стиглості рослин.

Матеріал і методика

Визначення стійкості селекційного матеріалу до збудника пірикуляріозу проводилося в умовах інфекційного розсадника. Для створення оптимальних умов використовували підвищений фон азотного живлення — N_{150} до сівби і два підживлення у фазу сходів та кушення по N_{45} кожна. Зараження проводили у фазу кушення — початок виходу у трубку. Для інокуляції використовували суміш рас місцевої популяції патогена, зібрану на сортах Мутант-428, Антей та інших. Титр спор у суспензії становив 100000 спор в 1 мл. Після інокуляції суспензіями спор гриба рослини рису накривали поліетиленою плівкою для створення необхідної вологості та успішного зараження.

Результати досліджень

Пірикуляріоз призводить до великих втрат урожаю у всіх країнах рисосіяння. Зокрема, в Росії щорічні втрати урожаю досягають 5–15%, а в Індії недобирають 10–15% валових зборів рису, а в окремі роки — 90% [3].

Стійкість до пірикуляріозу контролюється декількома домінантними генами серії Pi. Зокрема встановлено, що наявний у японському сорті Се-

кіяма 2 ген $Pi-i$ визначає стійкість до рас пірикуляріозу Кен-5 і П-2 б, а ген $Pi-k$ зумовлює стійкість до китайського сорту Рієшико, інфікованого расами П-2 б та Іна-72. Генотипи сортів Рієшико і Секіяма є носіями генів $Pi-a$ і $Pi-t$ [4,5].

За даними В. О. Дзюби [6], стійкість у вивчених зразків успадковується за типом неповного домінування. В F_2 отримано розщеплення на середньостійкі, напівстійкі, середньосприйнятливі і сприйнятливі рослини. Результати гібридологічного аналізу показали, що стійкість у досліджених зразків контролюється двома генами — $Pi-1$ і $Pi-2$.

Серед зразків виду *japonica* найвищою стійкістю володіють представники іранської групи (79,5% не уражених і дуже слабо уражених, 2,3% — сильно уражених) і східної (42,4% і 28,2%) еколого-географічних груп, а найменшою — середньоазійської (4,4% і 80,7% відповідно) [7]. Представники європейської групи займають проміжне становище — 33,5% і 29,1% відповідно.

У підвиди *indica* більша кількість стійких зразків було в латиноамериканській еколого-географічній групі (84,6%), кількість же сприйнятливих — найменша (5,1%). Дещо меншу групову стійкість показали представники африканської групи (71,4% і 14,3% відповідно). Представники південно-азійської та філіппінської груп мали приблизно однакову кількість стійких зразків (50,8% першої і 45,3% другої), але розрізнялися за кількістю сильно сприйнятливих сортів (31,5% і 19,2% відповідно).

Ми виконали спеціальні дослідження гібридів F_1 і F_2 , створених за трьома типами схрещувань (табл. 1). Тип I — це гібриди від схрещувань стійких до збудника пірикуляріозу сортів, ступінь ураження 0,1–1; тип II — гібриди від схрещувань стійких і середньостійких сортів; тип III — гібриди від схрещувань стійких, середньосприйнятливих і сприйнятливих сортів. Шкала обліку ураження пірикуляріозом описана у нашому посібнику [4].

Як видно із таблиці 1, у гібридів від схрещування за схемою «стійкий/стійкий» (тип I), ступінь ураження листків була незначною: в F_1 не перевищувала 6,2%, в F_2 — 9,4%. Значної диференціації гібридів, як і сортів — батьківських форм, не спостерігалось. Це одна закономірність.

Друга особливість вивчених гібридів від схрещування за типом I полягає в тому, що ступінь ураження популяцій F_2 була дещо вища, ніж популяція F_1 . Пояснюється це тим, що в F_2 в результаті розщеплення з'являються рослини з меншим ступенем стійкості, ніж у рослин F_1 . Таких рослин було небагато — 5–7% від загальної кількості проаналізованих особин, але вони були. Їх можна віднести до трансгресій з негативним для селекції ефектом.

Гібриди циклу схрещувань II уражувались патогеном значно сильніше, ніж гібриди попереднього циклу. У комбінаціях F_1 Рапан/Янтарний і Рапан/Престиж домінувала більш висока стійкість, у комбінації Серпневий/Янтарний домінувала менша стійкість, а в комбінації Серпневий/Пре-

Таблиця 1

Успадкування гібридами рису стійкості до пірикуляріозу, 2004–2005 рр.

Тип схрещування, комбінація	Ступінь ураження листків, %					
	P ₁	F ₁	P ₂	P ₁	F ₂	P ₂
I						
Серпневий/УкрНДС-657	5,5	3,5	6,5	4,3	8,7	6,2
Серпневий/УкрНДС-343	5,5	6,2	6,0	4,3	9,4	5,6
Серпневий/Спальчик	4,0	5,3	3,2	3,5	7,6	3,4
Серпневий/Рапан	4,0	4,6	6,4	3,5	7,5	6,0
Рапан/УкрНДС-657	6,2	5,4	6,5	5,6	8,2	6,2
Рапан/УкрНДС-343	6,4	5,2	6,2	5,0	7,4	6,5
Рапан/Спальчик	6,2	4,1	3,5	5,4	6,2	4,0
$\bar{x}$	5,4	4,9	5,5	4,5	7,8	5,4
II						
Серпневий/Янтарний	3,5	8,7	9,7	4,0	12,1	8,8
Серпневий/Престиж	3,5	13,6	10,2	4,0	15,6	9,6
Рапан/Янтарний	4,6	5,3	8,8	4,2	6,5	8,6
Рапан/Престиж	4,6	5,4	10,5	4,2	10,3	9,4
$\bar{x}$	4,0	8,2	9,8	4,1	11,1	9,1
III						
Серпневий/Дніпровський	3,6	8,7	22,0	3,8	12,6	21,5
Серпневий/Боярин	3,6	7,6	24,3	3,8	14,5	23,6
Серпневий/Віраж	3,0	8,0	25,0	3,5	12,4	24,7
Рапан/Дніпровський	5,2	14,6	21,6	4,4	16,3	21,4
Рапан/Боярин	5,4	10,3	23,7	4,0	12,5	23,5
Рапан/Віраж	5,0	12,5	24,6	4,5	13,0	24,2
$\bar{x}$	4,3	10,3	23,5	4,0	13,5	23,1

стиж виявилася депресія: гібридні рослини уражувались значно сильніше, ніж менш стійкий сорт Престиж.

В F₂ циклу схрещувань II ступінь ураження рослин була значно вища, ніж в F₁. У перших двох і четвертій комбінаціях виявлена депресія по стійкості, а в третій (Рапан/Янтарний) спостерігався проміжний тип успадкування.

У гібридів F₁ від схрещування стійких генотипів Серпневий і Рапан зі сприйнятливими сортами (Дніпровський, Боярин і Віраж) в F₁ спостерігалася домінування стійкості (тестер — сорт Серпневий) і проміжне успадкування (тестер — сорт Рапан). У другому поколінні стійкість успадковувалась за проміжним типом, або за типом часткового домінування сприйнятливості.

Таким чином, схрещування стійких до пірикуляріозу сортів забезпечують отримання, в основному, високостійких гібридів F₁ і F₂. Не випадково,

що цьому типу схрещувань надається перевага у селекційних програмах, якщо тільки геноносії стійкості не мають інших ознак, небажаних в утилітарному відношенні. Залучення до гібридизації сортів і форм з помірною стійкістю і в різній мірі сприйнятливих сортів призводить до зниження стійкості гібридного матеріалу. Неоднозначність результатів аналізу гібридів, отриманих від схрещувань одних і тих же патогеностійких компонентів з іншими формами пояснюється наявністю різних генів стійкості у батьківських форм з різними механізмами дії і взаємодії (алельної і міжалельної, адитивної, комплементарної тощо). Крім того, функції генів стійкості у значній мірі модифікується генами інгібіторами — I — P_i , а також факторами навколишнього середовища. У роботах по генетиці стійкості рослин до патогенів підкреслюється вплив генів — модифікаторів (а це епістатична дія генів) на ефект основних генів. Є теоретичні моделі розробки прояву кількісних ознак за наявності епістазу. Але при реальному генетичному аналізі кількісних ознак селекціонер зазвичай не знає конкретних локусів і алелів. Він має можливість слідкувати лише за зрушеннями генетично-статистичних параметрів популяції і за характером цих зрушень робити висновки про наявність епістазу.

Високостійкий до пірикуляріозу гібридний матеріал створюється схрещуванням зразків МГР-1 і МГР-2, отриманих у Всеросійському НДІ зернових культур, з сортами Україна-96, Дніпровський і Престиж. Отримано 14 гібридних комбінацій. Аналіз рослин F_1 і F_2 показав, що висока стійкість (тип 0; 0,1) у гібридів домінує. Натомість встановлено, що від зразка МГР-1 гібриди успадковують не тільки високу стійкість до патогена, але й остистість (домінантна ознака), яка небажана у селекційному відношенні. Від зразка МГР-2 гібридам передається комплекс низьких показників якості зерна: невелика маса 1000 зерен, підвищена тріщинуватість і наявність борошнистої плями на ендоспермі.

Названі зразки можна використовувати, в основному, як донори високої стійкості до пірикуляріозу, вони є носіями генів P_i , але отримані за їх участі гібриди необхідно у подальшому насичувати генами інших цінних ознак шляхом рекурентних або східчастих схрещувань. Цей спосіб надійний, але використання його вимагає багаторічної клопіткої праці.

Філіппінський карликовий сорт IR-58 володіє домінантним геном P_i -ta. Це дуже цінне генетичне джерело короткостебловості (рецесивний ген d) і стійкості до збудника пірикуляріозу. В отриманих нами гібридних популяціях від схрещування його з нашими сортами виділені цінні рекомбінанти, стійкі до хвороби, вилягання і загушення форми, але вони мають недостатню толерантність до великого (>10 см) шару води і в процесі вегетації (від сходів до викидання волоті) посіви сильно зріджуються.

Для практичної селекції рису важливо мати інформацію про структуру гібридних популяцій за стійкістю — сприйнятливістю рослин до збудника пірикуляріозу. Власне гібридологічний аналіз і статистика розподілу

рослин за характером стійкості слугує теоретичною базою для визначення селекційної цінності популяції рослин і програмування селекційного процесу.

Результати наших експериментальних досліджень показали, що в гібридних популяціях від різних схрещувань створюється велике різноманіття морфобіотипів за стійкістю — сприйнятливістю до пірикуляріозу. При цьому генетичне походження популяцій мало провідну роль у визначенні їх структури і наявності у них біотипів з різним рівнем стійкості до збудника хвороби.

Залучення до гібридизації з високостійкими сортами помірно сприйнятливих фенотипів (R/MS, R/S) знижувало у значній мірі селекційну цінність отриманих популяцій за стійкістю до пірикуляріозу. Про це свідчать статистичні дані виходу стійких і сприйнятливих форм. В останньому циклі схрещувань стійких форм взагалі не знаходили, натомість установлена висока частка сприйнятливих форм.

Викладений вище матеріал не можна оцінювати з позицій моно- чи олігогенного контролю стійкості до пірикуляріозу. Очевидно, у більш стійких генотипів досліджувана ознака контролюється адитивно-домінантною системою серії генів *Pi*. Значні зміни частот морфобіотипів у різних комбінаціях зумовлюються епістатичною дією інгібіторів стійкості — *I-Pi*, максимальна дія яких виявляється у гібридів з участю сприйнятливих компонентів гібридизації.

Висновки

Ступінь ураження рослин рису пірикуляріозом успадковується гібридами як кількісна ознака з тенденцією домінування більш високої стійкості. Схрещування високостійких сортів зумовлює підвищену частку (75–85%) біотипів з аналогічним типом ураження пірикуляріозом і помірно стійких (MR) форм у поколіннях розщеплення гібридів. Такі комбінації схрещувань є найбільш перспективними у напрямі поєднання в одному фенотипі бажаних ознак стійкості і продуктивності.

Література

1. *Ou S. H.* Rice diseases. — Commonwealth Mycological Institute, U. K., 1985. — 380 p.
2. *Morishima H.* Differentiation of pathogenic races of *Piricularia oryzae* into two groups: indica and japonica // SABRAO Newse. — 1969. — Vol. 1. — P. 16–18.
3. *Петрова А. И.* Болезни риса и борьба с ними. — М., 1968. — 112 с.
4. *Орлюк А. П., Вожегова Р. А., Федорчук М. И.* Селекція і насінництво рису. — Херсон: Айлант, 2004. — 250 с.
5. *Kiyosawa S.* The inheritance of resistance of the Zenith type varieties of rice to the blast fungus // Japan. J. Breed. — 1967. — Vol. 17, № 2. — P. 3–6.
6. *Дзюба В. А.* Генетика риса. — Краснодар, 2004. — 283 с.
7. *Ляховкин А. Г.* Рис. Мировое производство и генофонд. — 2-е изд., перераб. и доп. — СПб.: Профи-Информ, 2005. — 287 с.

Резюме

Ступінь ураження рослин рису пірикуляріозом (*Piricularia orisae* Cav.) успадковується гібридами як кількісна ознака з тенденцією домінування стійкості. Схрещування високостійких сортів зумовлює підвищену частку (75–85%) генотипів з аналогічним типом ураження пірикуляріозом і помірно стійких (MR) форм у поколіннях розщеплення гібридів.

Степень поражаемости растений риса пирикуляриозом (*Piricularia orisae* Cav.) наследуется гибридами как количественный признак с тенденцией доминирования устойчивости. Скрещивание высокоустойчивых сортов определяет повышение частоты (75–85%) генотипов с аналогичным типом восприимчивости пирикуляриозом и умеренно устойчивых (MR) форм в расщепляющихся поколениях гибридов.

The degree of defeat of plants of rice of *Piricularia orisae* Cav. is inherited by hybrids as a quantitative sign with the tendency of prevailing of stability. Crossing of high-steady sorts determines the increase of frequency (75–85%) of genotypes with a similar type of receptivity of *Piricularia orisae* Cav. and is moderate steady (MR) forms in the last generations of hybrids.

ВОЛЫНКИН В. А., ОЛЕЙНИКОВ Н. П., ЛИХОВСКОЙ В. В.

Национальный институт винограда и вина «Магарач» НААНУ

Украина, 98600, АР Крым, г. Ялта, ул. Кирова, 31, e-mail: select_magarach@ukr.net

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ТИПА ЦВЕТКА ПРИ СЕЛЕКЦИИ КРУПНОЯГОДНЫХ СТОЛОВЫХ СОРТОВ ВИНОГРАДА

Развитие генетических основ селекции винограда предполагает сбор и систематизацию информации по наследованию качественных и количественных признаков [1, 2]. Тип цветка растения является одним из важнейших признаков при подборе исходных форм и селекционном отборе перспективных гибридов. У винограда выделяют три основных типа цветка: обоеполый, функционально женский и функционально мужской [3], а также несколько переходных типов.

Впервые вопросы наследования типа цветка у винограда с генетических позиций были рассмотрены в работе W. Valleau [4], который считал, что женский пол у винограда должен быть гомогаметичным, мужской — гетерогаметичным, а все факторы, определяющие признаки пола, локализованы в паре половых хромосом и наследуются сцеплено. Развивая эти представления, А. М. Негруль [5] предложил схему наследования, где мужской пол доминантен, а женский — рецессивен. Множественные аллели гена в разных сочетаниях дают все три типа цветка, в том числе, и обоеполый, а наследование пола происходит по простым менделевским законам. В литературных источниках приведены достаточно противоречивые сведения по наследованию этого, относительно хорошо изученного признака. В основном отмечалось, что тип цветка наследуется по принципу полного

доминирования [6]. Выдвигали предположение что обоеполый [7, 8] либо женский [9, 10] тип цветка образуется при мутации гена мужского пола. Предполагалось также, что женский тип цветка обусловлен действием генов-модификаторов [11]. Еще одна гипотеза предполагает действие серии множественных аллелей, при которой генотип мужского пола доминирует над генотипом обоеполого, а тот в свою очередь, доминирует над женским. Согласно этой гипотезе мужской тип цветка определяется аллелем m_{-} , обоеполый — hh, hf, а женский — ff [12, 13]. Существует также версия о наличии сцепления генов по типу цветка [14, 15, 16]. Наличие полигибридного расщепления по полу выявлено в автогамных популяциях *V. vinifera* L. Ряд авторов указывают на более сильное доминирование в F_1 признаков пола филогенетически старых сортов [17, 18]. Таким образом, вопрос о наследовании типа цветка у винограда в настоящее время остается открытым.

Материалы и методы

Целью данной работы являлось проведение генетического анализа гибридного потомства и генотипирование исходных форм винограда по признаку «тип цветка».

Материалом исследований служили 3929 семян межвидового происхождения 44 комбинаций от скрещивания 6 материнских форм с функционально женским типом цветка с 12 обоеполыми отцовскими формами. Гибридный питомник семян расположен в Предгорном опытном хозяйстве института «Магарач». Гибридологический анализ проводили с помощью программы «HYBRID 2» [19]. Проверено 11 гипотез наследования признака, определено возможное число действующих генов, характер их взаимодействия и предполагаемые генотипы исходных форм.

Результаты и обсуждение

При циклических скрещиваниях сортов межвидового происхождения с функционально женским типом цветка Флора, Талисман, Подарок Запорожью, Фламинго, Деметра, Подарок Украине с обоеполыми цветками, Элегант сверхранний, Восторг, Ришелье, Розовый Тимур, Томайский, Аркадия, Кардинал, Кодрянка, Новый подарок, Находка Мариуполя, Ливия, Первозванный в гибридном потомстве преобладали в основном обоеполые формы (таб. 1).

Исключение составила популяция Деметра х Первозванный, в которой 57 процентов всех семян имели функционально женский тип цветка. В различных комбинациях скрещивания с участием сорта Восторг в качестве отцовской формы доминировали обоеполые семена. Наибольший выход обоеполых форм (67%) отмечен в комбинации скрещивания Подарок Украине х Ливия. В двух комбинациях скрещивания сформировалось около 10 процентов семян с мужским типом цветка.

В гибридологический анализ включено 29 репрезентативных популяций с числом семян более 25. С целью уточнения типа наследования были сформированы две группы исходных форм. В первую группу вошли

Таблица 1

Расщепление признака «тип цветка» у гибридных сеянцев винограда

№ п/п	Комбинация скрещиваний		Количество сеянцев, шт.	Исх. формы баллы		Процент сеянцев по баллам типа цветка ягод, %		
	♀	♂		♀	♂	1	3	5
1	Флора	Восторг	37	5	3	0	59	41
2	Флора	Находка Мариуполя	95	5	3	10	58	32
3	Талисман	Восторг	72	5	3	0	63	38
4	Подарок Запорожью	Восторг	29	5	3	0	63	37
5	Подарок Запорожью	Находка Мариуполя	25	5	3	12	60	28
6	Подарок Украине	Ливия	27	5	3	0	67	33
	Деметра	Первозванный	31	5	3	0	43	57

Примечание: типа цветка в баллах приведен по шкале МОВВ [20]: 1 балл — мужской; 3 балла — обоеполюй; 5 баллов — функционально женский.

популяции от скрещивания каждой из материнских форм с функционально женским типом цветка со всеми отцовскими компонентами, а во вторую — популяции от скрещивания каждой обоеполюй отцовской формы со всеми материнскими. Анализ результатов математико-статистической обработки данных показал, что наиболее вероятной гипотезой наследования типа цветка у винограда является «комплементарность два» — отклонение эмпирических расщеплений от теоретических по критерию Хи-квадрат составляют менее 0,05. Таким образом, проявление признака «тип цветка» у винограда по нашим данным определяется совместным действием трех неаллельных генов, не имеющих самостоятельного проявления — количество доминантных аллелей в генотипе может варьировать от 5 до 7.

По признаку «тип цветка» составлен перечень генотипических формул 18 исходных форм винограда (табл. 2). Генотипы исходных форм проявляют значительную гетерозиготность по исследуемому признаку. Сорта с функционально женским типом цветка полностью гетерозиготны по всем трем аллелям. Сорта с обоеполюй типом цветка гомозиготны по двум аллелям и гетерозиготны по одной. Первый локус сортов с обоеполюй типом цветка представлен гомозиготой «АА», второй локус — гетерозиготой «Вb», а третий — рецессивной гомозиготой «сс». Можно предположить, что ген А определяет формирование обоеполюй цветков, ген В — функционально женских, а ген С — функционально мужских цветков.

В результате проведенного анализа предложены следующие генотипические формулы растений винограда по типу цветка: растения с функцио-

Таблица 2

Генотипические формулы межвидовых родительских компонентов по признаку «тип цветка»

Материнские формы с функционально женским типом цветка	Генотип	Отцовские формы с обоеполым типом цветка	Генотип
Деметра	AaBbCc	Аркадия	AABbcc
Подарок Запорожью	AaBbCc	Восторг	AABbcc
Подарок Украине	AaBbCc	Кардинал	AABbcc
Талисман	AaBbCc	Кодрянка	AABbcc
Фламинго	AaBbCc	Ливия	AABbcc
Флора	AaBbCc	Находка Мариуполя	AABbcc
		Новый подарок	AABbcc
		Первозванный	AABbcc
		Ришелье	AABbcc
		Розовый Тимур	AABbcc
		Томайский	AABbcc
		Элегант сверхранний	AABbcc

нально женским типом цветка определяются генотипом AaBbCc, а с обоеполым цветком — AABbcc.

Выводы

Таким образом, наследование пола цветка у винограда происходит по типу «комплементарность два» и определяется взаимодействием трех неаллельных генов. Сорта с функционально женским типом цветка гетерозиготны по трем локусам. У сортов с обоеполым типом цветка первый локус представлен гомозиготой в доминантном состоянии, второй локус — гетерозиготой, а третий рецессивной гомозиготой.

P. S. Авторы выражают глубокую признательность и благодарность ведущему научному сотруднику отдела селекции, генетики винограда и ампелографии Национального института винограда и вина «Магарач» НААНУ Клименко В. П. за предоставленное программное обеспечение и научную консультацию по теме исследования.

Литература

1. Клименко В. П. Моделирование генетических ситуаций в случае полимерии // Виноградарство и виноделие. — 1994. — № 2. — С. 45–47.
2. Клименко В. П. Наследование качественных признаков винограда // «Магарач». Виноградарство и виноделие. — 2003. — № 3. — С. 11–14.
3. Клименко В. П., Волюнкин В. А. Наследование типа цветка и мускатного аромата у винограда // Виноградарство и виноделие: Сб. науч. тр., 1997 — Т. 28. — С. 27–30.
4. Valleau W. Inheritance of sexing grape // Amer. Nat. — 1916. — 90. — P. 554.
5. Негруль А. М. Генетические основы селекции винограда // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. — 1936. — № 6. — С. 8–12.

6. Avramov L. et al. Inheritance of flower type in some grape varieties (*Vitis vinifera* L.) // *Vitis*. — 1967. — №6. — P. 129–135.

7. Эйнет Дж., Пратт Ш. Виноград // Селекция плодовых растений. — М.: Колос, 1981. — С. 184–214.

8. Breider H., Sheu H. The determination and inheritance of sex in the genus *Vitis* // *Gartenbauwissenschaft*. — 1938. — № 11. — P. 627–674.

9. Голодрига П. Я., Трошин Л. П., Фролова Л. И. Генетика альтернативных признаков винограда // Труды по прикладной ботанике, генетики и селекции. — 1975. — Т. 54. вып. 2. — С. 112–127.

10. Трошин Л. П. Оценка и отбор селекционного материала винограда. — Ялта, 1990. — 136 с.

11. Negi S. S., Olmo H. P. Conversion and determination of sex in *Vitis vinifera* L. (*sylvestris*) // *Vitis*. — 1971. — V.9. — № 4. — P. 265–279.

12. Doasan Rives M. On the genetical control of sex in the genus *Vitis* // *Annales de amelioration des plantes*. — 1967. — V.17. — P. 105–111.

13. Levadoux L. Study of the flower and sexuality in grapes // *Ann. Ecole Nat. Agr. Montpellier* N. S. — 1946. — V.27. — P. 18–19.

14. Loomis H. M. Notes on a staminate grape selection as a parent // *Journal of Heredity*. — 1960. — N 51. — P. 212–213.

15. Oberle G. D. A genetic study of variation in floral morphology and function in cultivated forms of *Vitis* // N. Y. State Agr. Expt. Sta., Tech. Bul. — 1938. — 250 p.

16. Yamane H., Sumi T., Yamada M., Kurahara A., Nagata K. Inheritance of Flower Type in Grapes // *Bulletin of the Fruit Free Research Station*. — 1990. — № 17 Jan. — P. 1–9.

17. Михайлова П. В. Об изменчивости типа цветка винограда // М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1956. — Т. 51. — С. 542–549.

18. Студенникова Н. Л. О наследовании пола цветка при скрещивании винограда // «Магарач». Виноградарство и виноделие. — 2009. — № 2. — С. 4–6.

19. Клименко В. П. Методические рекомендации по количественной генетике винограда. — Ялта: ИВиВ «Магарач», 1998. — 24 с.

20. Мелконян М. В., Волынкин В. А. Методика ампелографического описания и агробиологической оценки винограда. — Ялта: ИВиВ «Магарач», 2002. — 27 с.

Резюме

Анализ гибридных популяций винограда позволил установить, что наследование пола цветка определяется тремя генами и происходит по типу «комплементарность два». Установлены генотипические формулы 18 исходных родительских форм.

Аналіз гібридних популяцій винограду дозволив встановити, що успадкування статі квітки визначається трьома генами і відбувається по типу «комплементарність два». Встановлено генотипічні формули 18 вихідних батьківських форм.

Analysis of grape hybrid populations revealed that inheritance of flower type is determined by three genes and occurs on type «complementarity two». Genotypic formulas of 18 initial parental forms were specified.

**ДУБОВЕЦ Н. И., СЫЧЕВА Е. А., СОЛОВЕЙ Л. А., ШТЫК Т. И.,
БОНДАРЕВИЧ Е. Б.**

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,

Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: N. Dubovets@igc.bas-net.by

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ХРОСОМОНО-ЗАМЕЩЕННЫХ ЛИНИЙ ГЕКСАПЛОИДНЫХ ТРИТИКАЛЕ И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ПРАКТИЧЕСКОЙ СЕЛЕКЦИИ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

В работах по интрогрессии хромосом D-генома пшеницы в кариотип гексаплоидных тритикале путем гибридизации $8x \times 4x$ -тритикале нами был создан разнообразный в генетическом отношении материал с содержанием различных типов D (A)- и D (B)-замещений хромосом. Несмотря на то, что каждая из созданных рекомбинантных форм $6x$ -тритикале представляла собой потомство одного гибридного растения, все они характеризовались неоднородным хромосомным составом [1]. Это связано с особенностями геномной структуры гибридов F_1 , кариотипы которых наряду с диплоидными содержат гаплоидные наборы хромосом исходных родительских форм. Взаимозамещения хромосом гаплоидных наборов в ходе стабилизации рекомбинантного генома теоретически могут привести к возникновению в потомстве каждого гексаплоидного гибрида $F_1 2187 (3^7)$ вариантов различных сочетаний хромосом A-, B- и D-геномов пшеницы. В действительности их образуется значительно меньше, но присутствие в пределах формы даже двух вариантов кариотипа делает её непригодной для практического использования. В связи с этим была проделана работа по созданию идентифицированных линий хромосомно-замещенных гексаплоидных тритикале со стабильным одновариантным кариотипом.

Материалы и методы

Исходным материалом для создания коллекции послужили рекомбинантные гексаплоидные тритикале, полученные путем гибридизации октоплоидных тритикале 25 АД20, ПРАО1 и ПРАД 20 ($2n=8x=56$; геном AABBDDRR) с созданными нами популяциями тетраплоидных тритикале ПРАТ 12, ПРАТ 16, ПРАТ 69 и ПРАТ 72 ($2n=4x=28$; геном A/BRR). К участию в скрещиваниях была привлечена также форма ПРАТ 21 селекции Дагестанской опытной станции ВИР, любезно предоставленная д.б.н. Куркиевым У.К. Весь гибридный материал был маркирован с использованием C-бэндинга [2]. Часть линий из комбинации скрещивания 25 АД20 $\times$ ПРАТ 21 дополнительно была проанализирована с использованием методов FISH [3] и GISH [4].

Результаты и обсуждение

Для получения линейного материала в пределах каждой гибридной формы было произвольно отобрано по 10 растений, которые выращивались в условиях принудительного самоопыления. Часть зерен с каждого расте-

ния использовалась для идентификации хромосомного состава. Остальные зерна после завершения анализа объединялись в соответствии с установленными вариантами кариотипа. В итоге была сформирована коллекция из 24 линий гексаплоидных тритикале, выделенных из гибридного материала четырех комбинаций скрещиваний $8x- \times 4x$ -тритикале и характеризующихся различными как в качественном, так и количественном планах межгеномными замещениями хромосом пшеницы (таблица 1).

Следует отметить, что многие выделенные из комбинации скрещивания 25 АД20 $\times$ ПРАТ21 линии имеют одинаковый набор замещений, однако мы сочли целесообразным не объединять их по этому признаку. Как показал сравнительный анализ цитологической стабильности и продуктивности замещенных форм тритикале, линии с одинаковым хромосомным составом могут существенно различаться по исследуемым признакам. Такие различия объясняются сложной гибридной природой экспериментального материала (включая исходные родительские формы), чем обеспечивается разнообразие сочетаний аллельных вариантов генов в пределах одной комбинации скрещивания.

Созданные рекомбинантные линии гексаплоидных тритикале, в первую очередь, являются ценным исходным материалом в селекции культуры на повышение качества зерна. Ранее нами было показано, что интрогрессия в кариотип тритикале хромосом D-генома пшеницы приводит к увеличению содержания белка в зерне и улучшению качества клейковины, причем преимущество в этом плане имеют формы с множественными межгеномными замещениями хромосом пшеницы (3–4 пары) [5]. В связи с этим были начаты работы по интрогрессии хромосом D-генома пшеницы в перспективные районированные сорта тритикале. В результате скрещивания лучших из них с хромосомно-замещенными линиями получен обширный гибридный материал, из которого по результатам комплексной оценки выделены формы с улучшенными технологическими качествами зерна.

Кроме того, коллекционные линии могут быть использованы для изучения эффектов интрогрессии хромосом D-генома пшеницы в кариотип гексаплоидных тритикале на проявление различных хозяйственно-ценных признаков. Так, нами была проведена работа по исследованию эффектов различных типов D (A)- и D (B)-замещений на экспрессию признаков продуктивности, в частности, элементов продуктивности колоса [6].

Между тем, получение высокопродуктивных урожаев основных зерновых культур определяется не только ростом потенциальной продуктивности культивируемых растений, но и их способностью противостоять действию абиотических стрессов. В формировании адаптивного ответа растений на воздействие таких стрессовых факторов, как высокие и низкие положительные температуры, анаэробия, засуха ведущую роль играют фотосинтетические структуры, о чем свидетельствуют многочисленные литературные данные [7, 8]. Исходя из этого, мы сочли корректным исполь-

Таблица 1

Типы межгеномных замещений хромосом у линий гексаплоидных тритикале

Комбинация скрещивания	Линия	Типы межгеномных замещений хромосом
25 АД20 × ПРАТ21	М I (1)-1	1D (1A), 2D (2B), 6D (6B)
	М I (1)-2	1D (1A), 2D (2B)
	М I (2)-1	1D (1A), 6D (6B)
	М I (2)-2	1D (1A), 2D (2B), 6D (6B)
	М I (2)-3	1D (1A), 2D (2B), 3D (3A), 6D (6B)
	М II (2)	1D (1A), 3D (3A), 6D (6B)
	М II (3)-1	1D (1A), 2D (2B), 3D (3A), 6D (6B)
	М II (3)-2	1D (1A), 2D (2B), 3D (3A) и 6D (6 A)
	М III (2)	1D (1A), 2D (2B), 3D (3A)
	М V (1)	1D (1A), 2D (2B)
	М V (2)	1D (1A), 2D (2B)
	М V (3)	1D (1A)
	М V (4)	1D (1A)
	М V (5)	1D (1A), 2D (2B)
	М Y (5)-1	1D (1A), 2D (2B) (T5RS.5AL)
	YI (1)-1	1D (1A)
	YI (1)-2	1D (1A), 2D (2B)
	М VIII (2)	1D (1A), 3D (3A)
	М VIII (3)	1D (1A), 3D (3A)
	37 (1)	1D (1A), 6D (6B) (T5 AS.5AL-5 BL)
ПРАО1 × ПРАТ72	4 (2)-1	1D (1A), 2D (2 A), 4D (4 B), 7D (7 A)
	4 (2)-2	2D (2 A), 4D (4 B), 7D (7 A)
	7	1D (1A), 2D (2B), 3D (3A)
ПРАД20 × ПРАТ12	12	1D (1A), 2D (2B)
ПРАД20 × ПРАТ72	8	1R (1 A), 3D (3 B), 4D (4B)
	15	1D (1A)

зовать функциональное состояние фотосинтетического аппарата в качестве тест-системы для изучения стрессоустойчивости рекомбинантных форм тритикале и выявления возможных эффектов интрогрессии хромосом D-гена пшеницы на способность растения противостоять стрессу, в частности, тепловому шоку.

Исследование проводили на этилированных проростках, выбор которых обусловлен тем, что на стадии этиоляции, как самом раннем этапе биогенеза растения, проростки, не имеющие сформированного фотосинтетического аппарата, наиболее подвержены стрессу и наименее устойчивы [9].

Кроме того этиолированные листья злаков удобны для измерения низкотемпературных спектров флуоресценции предшественника хлорофилла — протохлорофиллида (Пд). Известно, что в оптимальных физиологических условиях в этиолированных листьях злаков преобладает флуоресценция формы с максимумом свечения при 657 нм (Пд657), а при переходе растения в состояние стресса в неблагоприятных условиях растет интенсивность флуоресценции коротковолновой формы с максимумом при 635 нм (Пд635). Таким образом, об устойчивости проростков к стрессу можно судить по изменению величины отношения интенсивности свечения форм Пд (Пд657/Пд635) в сравнении с контролем — чем меньше изменяется эта величина, тем выше устойчивость к стресс-факторам (в нашем случае речь идет о термоустойчивости). В то же время сильное изменение соотношения в пользу коротковолнового Пд (снижение отношения Пд657/Пд635) свидетельствует о высокой стрессочувствительности исследуемого растительно-го объекта.

В эксперимент были включены 8 линий гексаплоидных тритикале. В таблице 2 приведены усредненные результаты измерений (не менее 4–5 повторностей) низкотемпературных спектров одинаковых участков листа контрольного и шокового варианта (ТШ), в котором проростки нагревали в течение 3 ч при 42 °С, а затем выдерживали 1 ч при 23 °С для достижения устойчивого стабильного состояния пигментов.

Таблица 2

Изменение параметров флуоресценции двух форм протохлорофиллида (Пд657/Пд633) в листьях 8-дневных этиолированных проростков 6х-тритикале под влиянием теплового шока

Вариант опыта	Линии 6х-тритикале							
	М V (4)	М V (1)	М I (2)-1	М I (1)-1	М III (2)	М II (2)	М II (3)-2	М II (3)-2
Контроль	6,86 ±0,59	5,53 ±0,24	3,02 ±0,38	2,70 ±0,10	2,89 ±0,14	3,04 ±0,20	4,85 ±0,22	3,50 ±0,18
ТШ	1,18 ±0,08	1,89 ±0,15	0,63 ±0,02	1,21 ±0,04	1,15 ±0,08	1,68 ±0,13	1,95 ±0,04	1,51 ±0,12
Конт-роль/ТШ	5,8	2,9	4,8	2,2	2,5	1,8	2,5	2,3

Примечание: контроль — листья проростков, выращенных при 23 °С, шоковый вариант (ТШ) — проростки в рулонах выдерживали 3 ч при 42 °С.

Как видно из данных таблицы, наиболее стрессочувствительной (т. е., менее устойчивой) оказалась линия М V (4) с одиночным 1D (1A)-замещением хромосом, действие теплового стресса на которую приводило почти к 6-кратному снижению степени агрегации Пд по сравнению с контролем. Учитывая тот факт, что у сорта 6х-тритикале Ульяна в условиях теплового стресса наблюдается лишь двухкратное (2,2) снижение исследуемого показателя, можно сделать вывод о сильном негативном влиянии данного типа замещений на способность тритикале противостоять стрессу. Введение

в кариотип дополнительного 2D (2В)-замещения (линия М V (1)) в значительной степени (в два раза) гасило этот негативный эффект, в то время как стрессочувствительность линии М I (2)-1 с дополнительным 6D (6В)-замещением была сопоставима с М V (4), хотя отношение Пд657/Пд633 у неё даже в контроле сильно отличалось от величины, характерной для этой линии. Этот факт можно интерпретировать как отсутствие влияния 6D (6В)-замещения хромосом на исследуемый признак. У всех остальных линий, характеризующихся наличием 3–4-х межгеномных замещений, наблюдалась примерно одинаковая реакция на тепловой стресс: степень агрегации Пд после шока отличалась от контроля в 1,8–2,5 раза, что вполне сопоставимо с реакцией вышеназванного сорта тритикале. При этом линия МII (2) по своей стрессоустойчивости даже превысила сорт.

Полученные данные еще раз подтверждают перспективность включения в селекционный процесс рекомбинантных форм тритикале с множественными межгеномными замещениями хромосом, а также наглядно демонстрируют возможность использования созданного линейного материала для изучения эффектов интрогрессии хромосом D-генома пшеницы в кариотип 6х-тритикале.

Литература

1. Дубовец, Н.И. Реконструкция кариотипа гексаплоидных тритикале путем межгеномных замещений хромосом / Н.И. Дубовец, Г.В. Дымкова, Л.А. Соловей, Т.И. Штык, В.Е. Бормотов // Генетика. — 1995. — Т. 31, № 10. — С. 1394–1399.
2. Бадаев, Н.С. Идентификация хромосом А и D геномов пшеницы с использованием замещений и перестроек между гомеологами у пшеницы и тритикале / Н.С. Бадаев [и др.] // Докл. Акад. Наук СССР. — 1983. — Т. 273., № 4. — С. 994–996.
3. Salina, E.A. Phylogenetic reconstruction of Aegilops section Sitopsis and the evolution of tandem repeats in the diploids and derived wheat polyploids / E.A. Salina [et al.] // Genome. — 2006. — Vol. 49, № 8. — P. 1023–1035.
4. Schubert I. An efficient screening for terminal deletions and translocations of barley chromosomes added to common wheat / I. Schubert [et al.] // Plant Journal. — 1998. — Vol. 14, № P. 489–495.
5. Dubovets N.I. Comparative cytological and biochemical study of synthetic hexaploid triticale with different number of intergenomic chromosome substitutions / N.I. Dubovets, G.V. Dymkova, L.A. Solovei, E.A. Sytcheva, T.I. Shtyk, V.E. Bormotov / Proc. 4-th Intern. Triticale Symp. Juskiw P. (ed.) Alberta. Canada. 1998. — Vol. 2. — P. 275–278.
6. Дубовец Н.И., Бондаревич Е.Б., Соловей Л.А., Штык Т.И., Сычева Е.А. Исследование эффектов интрогрессии хромосом D-генома пшеницы на продуктивность колоса рекомбинантных форм гексаплоидных тритикале // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. / Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова; редкол.: Кунах В.А. [и др.]. — К.: Логос, 2010. — Т. 9. — С. 70–74.
7. Sofronova, V.E. Carotenoid involvement in the regulation of *Spirodela polyrrhiza* (L.) Schleid resistance to cold shock / V.E. Sofronova, V.A. Chepalov, K.A. Petrov // J. of Stress Physiology & Biochemistry. — 2006. — Vol. 2, № 1. — P. 16–20.

8. Чиркова, Т. В. Пути адаптации растений к гипоксии и аноксии / Т. В. Чиркова — Л.: Изд-во ЛГУ, 1988. — 244 с.

9. Савченко, Г. Е. Структурная перестройка мембран этиопластов при тепловом стрессе / Г. Е. Савченко, Е. А. Ключарева, Л. Ф. Кабашникова // Биологические мембраны. — 2006.. — Т. 23, № 6. — С. 476–483.

Резюме

Представлены результаты многолетних исследований по созданию генетической коллекции хромосомно-замещенных линий гексаплоидных тритикале. Приведены примеры использования линейного материала в практической селекции и цитогенетических исследованиях.

The article presents the results of long-term investigations for creating a genetic collection of hexaploid triticale chromosome-substitution lines. The examples are given for using the line material in practical breeding and cytogenetic investigations.

¹ЗАХАРОВА В. О., ¹ГЕРАСЬКО Т. В., ¹ХІЛЬКО В. Т., ²ЗАХАРОВ М. В.

¹ Таврійський державний агротехнологічний університет, м. Мелітополь

² Інститут садівництва НААН, м. Київ sachar.aleksej@mail.ru

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ МУТАГЕНЕЗ В СЕЛЕКЦІЇ ЯБЛУНІ

Генофонд яблуні, який має сучасна селекція, не спроможний забезпечити всі вимоги наукової селекції. Виникла потреба розробити нові методи зміни спадковості, які б дали можливість ширше використовувати селекцію. У цьому відношенні експериментальний мутагенез завоював міцні позиції у сучасній селекції рослин [1,7]. Експериментальний мутагенез отримав значне поширення в нашій країні і в багатьох країнах світу. Накопичено великий фактичний матеріал. Тому нині потрібна більш глибока розробка теоретичних і методичних положень експериментального мутагенезу в застосуванні до польових і плодових культур [4]. Швидкий розвиток ядерної фізики, хімії, генетики, цитології та інших наук сприяли виникненню нових напрямків у селекції рослин, зокрема створенню методу індукованого мутагенезу [1].

Індукований мутагенез — це порівняно новий прогресивний метод одержання матеріалу для штучного відбору з метою одержання як нових сортів, так і створення вихідного матеріалу для селекції плодових культур. Іонізуюче опромінювання викликає всі види спадкових змін або мутацій. До них відносяться геномні мутації (кратні зміни гаплоїдного набору хромосом), хромосомні мутації або хромосомні аберації (структурні і кількісні зміни хромосом), точкові або генні мутації (зміни молекулярної структури генів [2]. Мутаційні процеси впливають на всі системи рослин і викликають зміни в біохімічному складі рослин [3].

За умов сучасності актуальності набула проблема визначення дії гострого опромінення за низьких рівнів іонізуючої радіації на процеси обмі-

ну речовин в рослинному організмі. У загальній концепції механізму дії малих доз радіації спектр мутацій, які індуковані іонізуючим опроміненням, не відрізняється від спектра спонтанних мутацій. Вивчення впливу гамма-опромінення в залежності від генотипу, дози обробки, стадії розвитку вегетативних бруньок, амплітуди сортової біохімічної мінливості плодів вивчені недостатньо [2, 3]. Тому вивчення дії іонізуючої радіації має велике значення для подальшого розвитку методів селекції рослин.

Загальними вимогами для всіх плодових культур є висока харчова цінність плодів, яка визначається вмістом цукрів, органічних кислот, вітамінів, біологічно активних речовин, що містяться в плодах яблуні в легкодоступній для людського організму формі. Додаючи до харчування плоди, людина має достатній захист для боротьби з негативними явищами довкілля, що дозволяє підвищувати опірні можливості організму деструктивному екологічному середовищу [3].

Мета і завдання дослідження. Метою даної роботи є вивчення особливостей біосинтезу хімічних речовин в плодах мутантних форм яблуні.

Для виконання наміченої мети були поставлені наступні завдання:

- вивчити біохімічний склад плодів у форм яблуні, одержаних при опроміненні вегетативних бруньок ^{60}Co ;

- установити характер мінливості біохімічного складу яблук в залежності від доз радіації і генотипу;

- вияснити межі мінливості біохімічних речовин від доз радіації.

Матеріал і методика

У результаті опромінення вегетативних бруньок яблуні ^{60}Co сортів Зірка, Ренет Смиренко і Слава переможцям дозами 15, 30, 45, 60 Грей були отримані мутантні форми. Виділені форми за цінними господарськими ознаками розхимерювали методом прищипки над 10–15 брунькою (в залежності від генотипу), або методом «омолоджуючої» обрізки з метою визвати ріст пагонів із сплячих бруньок. Таким чином ми одержали друге, третє і четверте вегетативне покоління. Обліки і спостереження в саду проводили за загальноприйнятими методами, біохімічний аналіз — спектрофотометричним методом. Дисперсійний аналіз проводили за Лакінім Г. Ф.

Результати та обговорення

Використання нових методів у селекції плодових культур дає можливість не тільки розширити об'єм наукової інформації, але й розкрити потенційні властивості біосинтезу органічних речовин у вже створених сортів. Під час визначення амплітуди змін органічних речовин під дією іонізуючої радіації було встановлено, що ці зміни відбуваються не лише під впливом дози опромінювання, але й залежно від генотипу (табл.).

З компонентів біохімічного складу сортів яблук, що вивчались, менш за все змінюється кількість цукрів. Більші потенційні можливості за кількістю цукрів у разі штучного опромінення виявили у сортів Ренет Смиренко і Слава Переможцям, менші — у сорту Зірка (табл.). Так, максимально

Вплив ⁶⁰Со на біохімічний склад плодів яблуні

Варіант обробки, Грей	Загальний цукор, %			Органічні кислоти, %			Аскорбінова кислота, мг%		
	Зірка	Ренет Сим.	Слава Перем.	Зірка	Ренет Сим.	Слава Перем.	Зірка	Ренет Сим.	Слава Перем.
00	10,8	8,5	8,0	0,98	1,09	1,23	7,3	6,8	14,1
15	10,3	9,5	10,5	1,05	1,12	1,40	6,0	9,8	15,4
30	11,0	11,1	10,8	0,98	1,54	1,43	6,8	9,4	11,4
45	10,6	10,0	10,8	0,97	1,68	1,54	10,0	9,3	12,0
60	11,0	8,3	9,2	0,89	1,23	1,06	7,3	8,4	8,7
НСР ₀₉₅	0,20	2,50	1,40	0,10	0,11	0,28	0,49	0,60	3,20

в контролі у сорту Зірка синтезується цукру 10,8% на сиру речовину, мутантні форми варіювали в межах 10,3–11,0%. Застосовані нами дози не викликали генотипічної мінливості у сорту Зірка по даній хімічній речовині (табл.).

В індивідуальному аналізі мутантних рослин, що були одержані від сорту Ренет Симиренко, виділені форми, які синтезували цукрів 11,1% на сиру вагу (доза опромінення 30 Грей) і 10,0% (доза опромінення 45 Грей). У контрольному варіанті максимально накопичується цукрів 8,5% (табл.). У сорту Слава переможцям виділили мутантні форми, які мали цукрів 10,8% (дози опромінення 30 і 45 Грей). В контрольному варіанті максимально синтезується 7,0% цієї речовини (табл.). За цими даними можна зробити припущення, що для збільшення цукристості в плодах яблуні сортів Ренет Симиренко і Слава переможцям перспективними є дози 30 і 45 Гр. Для сорту Зірка дози, які застосовувалися, не визвали змін у генетичному коді.

Смак плодів в основному визначається гармонійним співвідношенням цукрів і органічних кислот [5]. При цьому кислий смак плодів обумовлюється не загальним вмістом кислот, а тільки титрованих, тобто вмістом вільних кислот.

Як сорти з низькою кислотністю, так і сорти з підвищеною кислотністю, є мало перспективними, одержують низьку дегустаційну оцінку і мало придатні як для вживання в свіжому вигляді, так і для технічної переробки.

Вихідні сорти, від яких отримали мутантні форми, мають різну кількість вільних кислот. У сорту Зірка максимальна кількість титрованих кислот становить 0,98% (на сиру масу), (табл.). Цей показник змінюється залежно від зовнішніх і внутрішніх особливостей рослини від 0,6 до 1,0%. Індуковані форми цього сорту містять вільних кислот від 0,4 до 1,0%. У мутантних форм цього сорту не отримано плоди з більшою кислотністю, ніж

у контрольному варіанті. Можна зробити висновок, що дози ^{60}Co , які ми використовували, не викликали змін у генотипі мутантних форм по синтезу вільних кислот.

В індукованих форм, одержаних від сорту Ренет Симиренко, варіювання вмісту в плодах титрованих кислот значно більше, ніж у мутантів сорту Зірка. Сорт Ренет Симиренко максимально синтезує вільних кислот 1,68 (доза 45 Гр, табл.). Серед мутантних форм цього сорту виділили декілька рослин, плоди яких вміщували велику кількість вільних кислот. Це форми 2–23, 2–27 (доза обробки 30 Гр) і 3–7, 3–7 а (45 Гр).

Сорт Слава переможцям здатний максимально накопичувати вільних кислот 1,23 %. Мутантні форми цього сорту здатні синтезувати вільних кислот від 1,40 до 1,54 % (доза обробки 15, 30, 45 Грей, табл.). Ці плоди не будуть мати високу дегустаційну оцінку, тому що загально відомо, що хороший смак мають плоди з вмістом вільних кислот до 1,0 % [6]. Проведений експеримент показав, що для отримання плодів яблук з оптимальною кількістю цукрів і органічних кислот, необхідно знати норму реакції сорту на дозу опромінення.

Вміст аскорбінової кислоти (АК) в плодах яблук південної зони садівництва дуже низький, тому створення сортів з підвищеним вмістом цієї речовини є актуальним. Сорти, що вивчалися, мають невелику кількість АК. Найбільше її в плодах Слава переможцям (табл.).

Дослідження показали, що гамма-випромінювання впливає на біосинтез аскорбінової кислоти. Мутантні форми мали як менше мінімальної кількості, так і більше максимальної кількості аскорбінової кислоти порівняно з контрольним варіантом. Мінливість в індукованих форм за ознакою кількості аскорбінової кислоти була наступна: у форм від сорту Зірка — від 2,2 до 10,0 мг %, в той час, як у контрольного варіанту — від 4,0 до 7,3 мг %. У індукованих форм від сорту Ренет Симиренко — від 5,6 до 9,8 мг %, в контролі — 6,0–6,8 мг %. Плоди цього сорту мають більший гомеостаз по цій ознаці. Плоди сорту Слава переможцям в контролі варіювали від 6,9 до 10,1 мг % по накопиченню АК, мутантні форми мали межі 5,9–13,4 мг %.

У селекції на підвищений вміст АК значний інтерес представляють форми, які протягом декількох років, незалежно від зовнішніх умов, мають підвищений вміст АК. Це форми від сорту Зірка — 15–17, 15–17 а, 15–18 а, 15–21, 15–21 а, 15–28 (доза обробки 45 Грей); від сорту Ренет Симиренко — 3–10, 3–17 а, 3–21 (доза обробки 45 Грей); Слава переможцям — 19–7, 19–22 (доза опромінення 15 Грей), 20–7, 20–8 (30 Грей), 21–5, 21–29 (45 Грей).

У своїх дослідженнях ми також вивчали вплив гамма-опромінення на синтез біологічно-активних речовин: лейкоантоціанів, хлорогенової кислоти, катехінів, флавонолів. Мутабільність сортів, що вивчалися за цієї ознакою, дуже різна. При тій самій дозі опромінення в залежності від сорту всі вони мали різні кількісні показники. У плодах яблуні в значній кількості

містяться фенольні сполуки, які мають Р-активні властивості, беруть активну участь у окисно-відновних, регулюючих та захисних системах, як організму яблуні, так і людини. За поширенням серед рослин лейкоантоціани займають одне з провідних місць в ряду флавоноїдів. Їх присутність у рослин обумовлює яскраву пігментацію різних відтінків — від рожевого до темно-фіолетового.

Вміст лейкоантоціанів сильно варіює серед індукованих форм. Так, у мутантних форм від сорту Зірка лейкоантоціанів накопичується 78–25 мг/100 г сирової маси. У контролі — 163,3–194 мг%. У форм, які були отримані від сорту Ренет Симиренко варіювання ще більше: 48–261 (99–164 мг% в контролі). У плодах індукованих рослин Слави переможцям лейкоантоціанів міститься 67–296, у контролі — 94–150 мг%.

Різниця у накопиченні цієї важливої для життєдіяльності рослинного організму речовини в плодах мутантних форм яблуні дуже велика — у тричотири рази проти контрольних рослин. Оскільки ця ознака дуже лабільна, то відбір мутантних форм і послідуєючий біохімічний аналіз плодів був проведений ретельно, враховуючи особливості прояву біогенних і абіотичних умов.

При вивченні вмісту хлорагенової кислоти, катехінів і кверцитину встановлено також зміни біосинтезу цих речовин під впливом радіації. Дисперсійний аналіз показав дійсну різницю в підвищенні флавоноїдів індукованих форм сортів, що досліджувалися.

Висновки

В результаті проведених біохімічних досліджень було встановлено, що нові мутантні форми, які отримані в результаті опромінення ⁶⁰Co, мали зміни в біосинтезі органічних речовин. Так, серед мутантних форм сорту Ренет Симиренко виділено 23 форми з підвищеним вмістом цукрів, а у сорту Зірка і Слава переможцям, відповідно, по 13 і 11 форм.

З оптимальною кількістю титрованих кислот у сорту Ренет Симиренко виділено 24 форми, у Зірки — 11, Слави переможцям — 9.

По максимальному синтезу біологічно активних речовин (лейкоантоціанів, катехінів, кверцитину і хлорагенової кислоти) виділено 21 форма від всіх сортів, що вивчалися. Ці дослідження дозволяють зробити висновки, про потенційні можливості сортів яблуні, що вивчалися.

Література

1. Кузин А. М., Каушанский Д. А. Прикладная радиобиология. — М.: Энергоиздат, 1981. — 222 с.
2. Соифер В. Н. Репарация генетических повреждений. — <file:///D:/373.html> — 2004. — 342 с.
3. Predieri S., Magli M., Zimmerman K. H. Pear mutagenesis gamma-rays and field selection for vegetative form traits // Euphitica. — 2007. — 237p.
4. Казанова А. М. Влияние ионизирующей радиации на изменчивость признаков у плодовых растений. — М.: Атомиздат. — 2003. — 138 с.
5. Хесце К. О. Селекция плодовых растений. — М.: Колос, 1991. — 362 с.

6. Седов Е. Н., Макаркина М. А., Левгерова Н. С. Биохимическая и технологическая характеристика плодов генофонда яблони. — Орел: Изд-во ВНИИСПК, 2007. — 312 с.

7. Захарова В. О. Аналіз потенційних можливостей зміни біохімічного складу в плодах яблуні під впливом іонізуючого опромінення // Вісник Дніпропетровського державного аграрного університету. — 2008. — № 1. — С. 12–14.

8. Лакін Г. Ф. Биометрия. — М.: Высшая школа. — 1980. — 292 с.

Резюме

Подані та проаналізовані результати впливу гамма-випромінювання різних доз радіації на біосинтез деяких біохімічних речовин, які містяться в плодах яблуні. Виділено форми та визначено дозу, за яких як збільшується, так і зменшується вміст біохімічних речовин.

Изложены и проанализированы результаты воздействия гамма-излучения разных доз радиации на биосинтез некоторых биохимических веществ, которые содержатся в плодах яблони. Выделены формы и определены дозы, под воздействием которых как увеличивается, так и уменьшается содержание изучаемых биохимических веществ.

Results of influence of gamma radiation of different doses of radiation on biosynthesis of some biochemical substances which contain in apple-tree fruits are stated and analysed. Forms are allocated and doses under influence of which the maintenance of studied biochemical substances increases and decreases are defined.

ЗАХАРОВА Е. В., НЕДЕЛЬКО А. В., ТИМОФЕЕВА Г. В.*, КОВАЛЕВА Л. В.*

Российский государственный аграрный университет —

МСХА им. К. А. Тимирязева, Россия, 127550, Москва, ул. Тимирязевская, 49, zakharova_ekater@mail.ru

**ФГБУН Институт физиологии растений им. К. А. Тимирязева РАН*

ГАМЕТОФИТНАЯ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТЬ: ПРИЗНАКИ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ И ДИНАМИКА ЭТИЛЕНА В ПЕСТИКАХ ПЕТУНИИ ПОСЛЕ САМОНЕСОВМЕСТИМОГО ОПЫЛЕНИЯ

Механизм гаметофитной самонесовместимости является одним из наиболее распространенных барьеров самооплодотворения, он предотвращает инбридинг и способствует генетическому разнообразию. Пыльцевые зерна селективируются на поверхности рыльца в пользу прорастания совместимых и отторжения несовместимых. Молекулярный механизм гаметофитной самонесовместимости не установлен, несмотря на постоянный интерес исследователей к этому вопросу [1,2].

В настоящее время дискутируются вопросы о включении в механизм самонесовместимости программируемой клеточной смерти (ПКС) [3–5]. Гормональные сигналы являются ведущими элементами в регуляции клеточной дифференцировки и всей программы развития, в том числе и запрограммированной гибели клеток у растений [6]. К сожалению, механиз-

мы регуляции апоптоза фитогормонами у растений практически не изучены. Проведенное нами ранее изучение гормонального баланса системы пыльца-пестик петунии после совместимого и самонесовместимого опыления [7] позволило предположить участие этилена в формировании и/или в функционировании механизма гаметофитной самонесовместимости. Однако имеющиеся в настоящее время сведения о биосинтезе этилена в тканях опыленного пестика пока не позволяют представить полную картину этого процесса в системе пыльца–пестик. В частности, вопросы об участии пыльцы и роли отдельных частей пестика (рыльца столбика и завязи) в процессе биосинтеза этилена остаются еще во многом неясными, причем какие-либо экспериментальные данные об участии компонентов системы биосинтеза этилена в механизме самонесовместимости практически отсутствуют.

Полагаем, что одной из причин ингибирования роста пыльцевых трубок после самонесовместимого опыления может быть ПКС, индуцируемая этиленом [8,9].

Материал и методы

Объектом исследования служили пестики петунии (*Petunia hybrida* L.). Варианты эксперимента включали неопыленные и опыленные пестики через различные промежутки времени (1, 4, 6, 8 и 24 ч) после самосовместимого и самонесовместимого опыления.

Деградация ДНК является типичным признаком ПКС как в растительных, так и в животных клетках [4]. В качестве позитивного контроля брали геномную ДНК, выделенную из лопнувших пыльников петунии, где ПКС установлена [9]. Замороженные в жидком азоте пестики или пыльники растапливали в ступке в мелкий порошок, ДНК выделяли по методу Bernatsky & Tanksley [10]. 5 мкг геномной ДНК разделяли в течение 3 ч в 3 % агарозном геле в tris-borat-EDTA буфере (50 В).

Измерение уровня выделения этилена проводили с помощью газового хроматографа [11]. За 0.5 ч до начала каждого измерения цветки срезали с растения, погружали основание цветоножек в стаканы с водопроводной водой и переносили в лабораторию. Одновременно для контроля исходного уровня этилена в воздухе герметично закрывали пустой флакон. Интенсивность выделения этилена определяли по изменению концентрации этилена в инкубационных флаконах на газовом хроматографе, снабженном концентрирующей системой для углеводов, позволяющей в десятки раз повышать чувствительность анализа за счет использования проб воздуха большого объема. Высокая чувствительность в этом случае необходима для того, чтобы максимально сократить время инкубации и провести анализ до начала выделения “раневого” этилена поврежденными во время расчленения тканями пестика. Опыты проводили в трехкратной повторности.

Определение содержания АЦК проводили по методу Lizada и Yang [12]. Образцы (50 мг) на холоде гомогенизировали в присутствии 1.5 мл

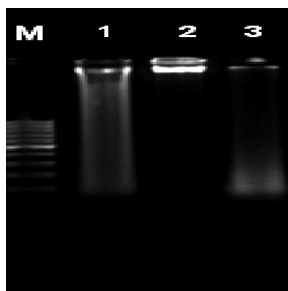


Рис. 1. Электрофорез ДНК в агарозном геле: М — ДНК маркер, 1 — пыльники петунии; 2 — пестики петунии (24 ч после самосовместимого опыления); 3 — пестики петунии, 24 ч после самонесовместимого опыления

0.2 М ТХУ. АЦК экстрагировали в течение 2 ч. Полученный гомогенат центрифугировали (“Elmi”, CM70M) в течение 5 мин при 2300 g. Затем в сосудик (15 мл) добавляли 1 мл супернатанта, 0.6 мл дистиллированной воды и 0.2 мл 0.01 М сулемы. Сосудик герметично закрывали пробкой из самоуплотняющейся резины, через которую шприцем вводили 0.2 мл смеси из гипохлорида натрия (5.25%) и насыщенного раствора гидроксида натрия (в соотношении 2:1). Образующийся из АЦК этилен определяли на газовом хроматографе [11].

Результаты и обсуждение

Пыльцевые зерна петунии при попадании на рыльце быстро прорастают и растут по проводниковым тканям столбика (средняя длина пестика петунии 30 мм) в течение 6 ч после совместимого и несовместимого опылений с одинаковой скоростью. Однако через 8 ч после самонесовместимого опыления пыльцевые трубки прекращают свой рост на расстоянии $8 \pm 0,6$ мм от поверхности рыльца, в то время как после совместимого опыления — продолжают расти до завязи.

Деградация ДНК была обнаружена в пестиках после самонесовместимого опыления (рис. 1), как при исследовании целого пестика, так и, что особенно важно, в столбике, где, начиная с 6–8-ми часов опыления, и происходит остановка роста самонесовместимых пыльцевых трубок. Эти данные свидетельствуют в пользу предположения о включении ПКС в механизм гаменофитной самонесовместимости в системе пыльца-пестик петунии.

Ранее было показано, что опыление вызывает усиление выделения этилена тканями пестика петунии [7]. В данной работе мы исследовали динамику содержания предшественника этилена — АЦК и образования этилена в ходе прорастания пыльцы и роста пыльцевых трубок в тканях столбика петунии после самосовместимого и самонесовместимого опыления.

Опыление очень быстро запускало синтез АЦК в системе пыльца–пестик (рис. 2). Система пыльца–пестик самосовместимого клона содержала в 2 раза больше АЦК, чем подобная система самонесовместимого клона, в которой уровень продукции этилена был в 4–5 раз выше, чем у самосовместимого клона.

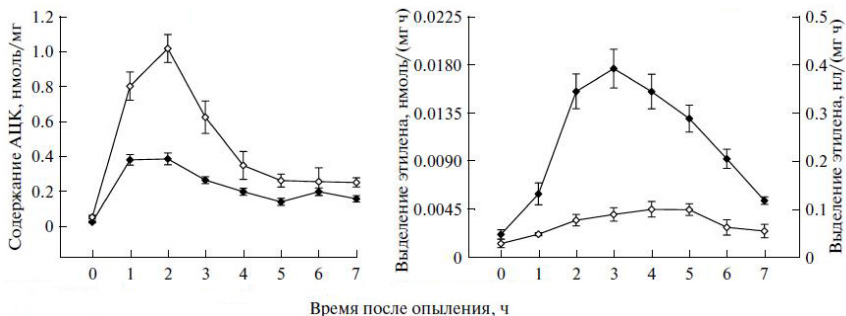


Рис. 2. Содержание АЦК и интенсивность выделения этилена в системе пыльца–пестик петунии двух клонов после самоопыления. Белые фишки — самосовместимое опыление, черные фишки — самонесовместимое опыление

Полагаем, что повышенный уровень этилена после самонесовместимого опыления связан с функционированием механизма самонесовместимости, вследствие которого рост пыльцевых трубок останавливается в проводниковых тканях столбика. В пользу такого предположения могут служить наши данные о том, этилен в высокой концентрации (10 мкл/л) на 50% замедлял скорость роста пыльцевых трубок петунии на среде культивирования.

Выводы

Синтез этилена сопровождает прорастание и рост пыльцевых трубок в тканях пестика в прогамной фазе оплодотворения. Полученные данные свидетельствуют о возможном участии этилена в механизме гаметофитной самонесовместимости, одного из основных барьеров самооплодотворения. Прорастание мужского гаметофита после самонесовместимого опыления сопровождалось более высоким уровнем выделения этилена, чем после самосовместимого опыления. Полагаем, что интенсивное образование этилена после самонесовместимого опыления индуцирует ПКС в несовместимых пыльцевых трубках и приводит к торможению их роста в проводниковых тканях столбика.

Литература

1. *de Nettancourt D.* Incompatibility and incongruity in wild and cultivated plants.— Springer, Berlin, Heidelberg, New York. 2001.— P.322
2. *Rea A. C., Nasrallah J. B.* Self-incompatibility systems: barriers to self-fertilization in flowering plants // *Int. J. Dev. Biol.* 2008.— V.52.— P.627–636.
3. *Reape T.J., Molony E.M., Mc Cabe P.F.* Programmed cell death in plants; distinguishing between different modes // *J. Exp. Bot.* 2008.— V.59.— P.435–444.
4. *Wang C, Xu G, Jiang X, Chen G, Wu J, Wu H, Zhang S.* S-RNase triggers mitochondrial alteration and DNA degradation in the incompatible pollen tube of *Pyrus pyrifolia* in vitro // *Plant J.* 2009.— 57.— P.220–224.

5. Serrano I., Salvatore P., Adela O. Programmed-cell-death hallmarks in incompatible pollen and papillar stigma cells of *Olea europaea* L. under free pollination // Plant Cell Rep. 2010. — 29. — P.561–572.

6. Ванюшин Б. Ф. Апоптоз у растений // Успехи биологической химии. 2001. — Т. 41. — С.3–38.

7. Kovaleva L. V., Zakharova E. V. Hormonal status of the pollen-pistil system at the progamic phase of fertiliation after compatible and incompatible pollination in *Petunia hybrida* // Sex plant reproduction. 2003. — 16. — P.191–196.

8. Woltering E. J., de Jong A. J., Yakimova E. T. Apoptotic cell death in plants: the role of ethylene // Biology and biotechnology of the plant hormone ethylene. Dordrecht: Kluwer. 1999. — P.209–216.

9. Roggers H. J. Programmed cell death in floral organs: how and why do flowers die? // Ann Bot. 2006. — 97. — P.309–315.

10. Bernatsky R. and S. D. Tanksley. Toward a saturated linkage map in tomato based on isozymes and random cDNA sequences // Genetics. 1986. — 112. — P.887–898.

11. Ракитин В. Ю., Ракитин Л. Ю. Определение газообмена и содержания этилена, двуокиси углерода и кислорода в тканях растений // Физиология растений. 1986. — Т. 33. — С.403–413.

12. Lizada M. C., Yang S. F. A simple and sensitive assay for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic Acid // Anal. Biochem. 1979. — V.100. — P.140–145.

Резюме

Получены предварительные данные, свидетельствующие в пользу предположения об участии ПКС и фитогормона этилена в механизме гаметофитной самонесовместимости.

Preliminary data testify that the PCD and phytohormone ethylene are participating in the mechanism of gametophytic self-incompatibility.

У даній роботі отримані дані на користь припущення про участь ПКС і фітогормона етилену в механізмі гаметофітної самонесумісності.

**КАРЕЛОВ А. В.^{1,2}, ПИРКО Я. В.¹, КОЗУБ Н. А.^{1,2}, СОЗИНОВ И. А.²,
ПИРКО Н. Н.¹, КОЛЮЧИЙ В. Т.³, БЛЮМ Я. Б.¹, СОЗИНОВ А. А.¹**

¹ Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України, ул. Оситовського, 2 а, Київ, 04123, Україна. E-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

² Інститут захисту рослин НААН України, ул. Васильківська 33, Київ, 03022, Україна. E-mail: plant_prot@ukr.net, hromogen-black@ukr.net

³ Міроновський інститут пшениці імені В. М. Ремесла НААН України, 08853, Центральне, Міроновський район Київської обл.

АНАЛИЗ ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНОВ *Sr2* И *SrCad* В СОРТАХ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ МИРОНОВСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Грибные патогены являются распространёнными вредоносными возбудителями болезней пшеницы. Они способны переноситься на большие расстояния в виде спор, заражая значительные площади посевов, а при благоприятствующих этому условиях приводят к эпифитотиям [1]. Особо-

го внимания заслуживает возбудитель стеблевой ржавчины, гриб *Puccinia graminis* Pers. f. sp. *tritici* Erikset Henn, потери урожая от которого при эпифитотиях составляют 20–50 % [2]. В связи с этим во второй половине прошлого столетия был введен в селекцию и получил широкое распространение среди мировых сортов пшеницы ген *Sr31*, дававший устойчивость ко всем на то время существовавшим расам стеблевой ржавчины [3]. Однако в 1996 г. в Уганде была выявлена раса стеблевой ржавчины, названная впоследствии Ug99 или TTKSK, вирулентная к сортам пшеницы, имеющим ген *Sr31* [4]. Впоследствии были выявлены гены, дающие устойчивость к этой расе стеблевой ржавчины, однако большая их часть является результатом недавних скрещиваний пшеницы с дикорастущими родственниками [5] и, следовательно, вероятность их распространения среди сортов украинской селекции достаточно низка.

Рецессивный ген *Sr2* был введен в геном пшеницы при скрещивании её с сортом полбы (*Triticum turgidum* var. *dicoccum*) Yaroslav в 20–30-х годах прошлого столетия. В результате был получен сорт «Норе» [6], несущий этот ген. Следовательно, существует определенная вероятность обнаружения его в «устойчивом» аллельном состоянии у сортов украинской селекции. Ген *Sr2* локализован на коротком плече 3В хромосомы пшеницы [7] и обеспечивает «взрослую» стабильную умеренную устойчивость ко всем известным расам стеблевой ржавчины [8]. Основным фенотипическим маркером этого гена является так-называемая «псевдо-чёрная сечка» [9, 10]. Долгое время единственным молекулярно-генетическим маркером для этого гена являлся микросателлит *Xgwm533*. Spielmeier с соавт. (2003) показали, что аллель этого маркера, характеризующаяся ампликоном длиной 120 п. н., ассоциируется с наличием «активного» состояния *Sr2* гена у большинства исследованных линий пшеницы [11]. Были созданы его модификации, однако точность анализа, даже с их помощью, составляла приблизительно 85 % [12]. Недавно на основе частичного сиквенса участка экспрессируемой последовательности гена был создан молекулярно-генетический CAPS маркер *csSr2*, оценочная точность которого составляет приблизительно 95 %. Он позволяет выявить три различных аллельных состояния *Sr2* гена: “null”-аллели или отсутствие амплификации; аллель типа “Marquis” (с образованием двух фрагментов длиной 225 п. н. и 112 п. н. после разрезания рестриктазой *BspHI* фрагмента длиной 337 п. н., образующегося при амплификации с *csSr2* праймерами), — связан с «неактивным» состоянием *Sr2* гена; аллель типа «Норе» (при разрезании рестриктазой *BspHI* образуются три фрагмента длиной 172 п. н., 112 п. н. и 53 п. н.) — связан с присутствием «активного» состояния *Sr2* гена (характерно для сортов, устойчивых к стеблевой ржавчине) [13].

Также была выявлена устойчивость к расе стеблевой ржавчины Ug99 среди некоторых канадских сортов пшеницы (в частности, сортов «Рее» и «Cadillac»). Эта устойчивость имеет ювенильный характер и проявляется

ся в коэкспрессии с геном *Lr34*. Источник этой устойчивости был определён как ген *SrCad*. Этот ген локализован на коротком плече хромосомы 6D пшеницы, на расстоянии 1,6 сМ от молекулярно-генетического маркера FSD_RSA (с «устойчивым» к стеблевой ржавчине аллельным состоянием ассоциируют ампликоны длиной 275 п. н.) [14], который в свою очередь, маркерует ген устойчивости к твёрдой головне пшеницы (*Tilletia tritici*) *Bt10* [15].

Поэтому анализ украинских сортов пшеницы на наличие, выявление аллельного состояния и определение частоты встречаемости генов *Sr2* и *SrCad* является важной задачей, решение которой имеет большое значение для дальнейшего развития селекционных программ. Полученная информация позволит оценить потенциал украинских сортов пшеницы при вероятном появлении стеблевой ржавчины Ug99 и даст возможность селекционерам более широко использовать сорта, несущие эти гены, при дальнейшем скрещивании, в частности, с сортами, ранее определёнными нами как несущие ген *Lr34* (+) [16].

Материалы и методы

Растительный материал. Исследовали 43 сорта озимой мягкой пшеницы, созданные в Мироновском институте пшеницы им. В.М. Ремесла НААН Украины (далее МИП) и в Институте физиологии растений и генетики НАН Украины (ИФРиГ). В качестве условного контроля при работе с исследуемым материалом использовались сорта «Норе» (контроль для *Sr2* гена) и «Cadillac» (контроль для *SrCad*).

Выделение ДНК. Для выделения ДНК использовали 3–5-дневные проростки пшеницы. Проростки измельчали в фарфоровой ступке с жидким азотом. Выделение и очистку ДНК проводили при помощи ЦТАБ-метода с незначительными модификациями [17].

Проведение ПЦР. Для определения аллельного состояния *Sr2* гена в исследуемом материале использовали два молекулярно-генетических маркера — *Xgwm533* и *csSr2*. Последовательности праймеров для них были описаны ранее [11, 13]. Рабочая концентрация праймеров в обоих случаях составила 10 пмоль/мкл. Для проведения ПЦР использовали taq-полимеразу компании «Fermentas™» активностью 500 ед., другие реактивы — компании «Helicon™». На один образец объёмом 25 мкл для реакции с *Xgwm533* праймерами брали: 2 мкл ДНК (50–100 нг), 2,5 мкл 10хПЦР-буфера, содержащего $MgCl_2$ и KCl, 1,0 мкл соответствующих праймеров, 0,5 мкл дНТФ (из расчёта конечной концентрации 25 мМ) и 0,5 мкл ДНК-полимеразы. Условия амплификации для обоих маркеров были следующими: начальная денатурация — 94 °С на протяжении 3 мин., затем 55 циклов в режиме: денатурация — 94 °С, 30 сек., отжиг праймеров — 60 °С, 40 сек., элонгация — 72 °С, 50 сек. и заключительная элонгация — 72 °С, 7 мин. После проведения амплификации для визуализации *csSr2* маркера реакционную смесь обрабатывали рестриктазой *BspHI*. В случае с *SrCad* ге-

ном для его детекции использовали FSD_RSA маркер с соответствующими последовательностями праймеров [14]. Объем и состав реакционной смеси аналогичен описанному выше, а условия амплификации были следующими: начальная денатурация — 95 °С на протяжении 3 мин., затем 40 циклов в режиме: денатурация — 95 °С, 30 сек., отжиг праймеров — 44 °С, 60 сек., элонгация — 72 °С, 2 мин. и заключительная элонгация — 72 °С, 7 мин.

Результаты ПЦР анализировали с помощью электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле. В качестве интеркалирующего агента для визуализации ДНК в ультрафиолете использовался бромистый этидий.

Результаты и обсуждение

В результате исследования сортов озимой мягкой пшеницы мионовской селекции при помощи микросателлитного маркера *Xgwm533* оказалось, что больше половины из них имели ампликон длиной 120 п. н., косвенно указывая на наличие *Sr2* гена в исследуемых генотипах пшеницы. В то же время около четверти изученных сортов имели аллель «null», что является довольно высоким показателем для изученных сортов. Также, кроме ранее описанных аллелей: «null», 120 и 155 [11,13] для данного микросателлитного маркера нами были выявлены еще два, ранее не описанных аллеля (100 и 110). Результаты исследования встречаемости различных аллельных состояний *Sr2* гена на основе анализа CAPS маркера (*csSr2*) указывают на то, что более половины исследованных сортов имели аллель «Marquis», который свидетельствует о присутствии *Sr2* гена, но в неактивном состоянии. Значительная часть сортов, приблизительно 25% имели «null» аллель, что напоминает ситуацию с встречаемостью *Sr2* гена среди австралийских сортов, при исследовании которых, также было выявлено значительное количество генотипов с «null» аллелями [13]. Ни один из изученных нами сортов не имел аллель типа «Норе», что свидетельствует об отсутствии генотипов с «устойчивым» аллельным состоянием. Это может указывать на то, что при создании сортов пшеницы мионовской селекции, в исходном селекционном материале *Sr2* гены в «активном» аллельном состоянии не были представлены.

Также, учитывая то, что канадские и украинские сорта пшеницы теоретически могут иметь общего предка, был осуществлен анализ присутствия *SrCad* гена у изученных сортов пшеницы. В результате проведенного молекулярно-генетического анализа при помощи FSD_RSA маркера было установлено, что ни один из изученных сортов не имеет этого гена. Это также касается и трех сортов («Мионовская 30», «Веста» и «Святкова»), у которых ранее нами были выявлены ценные для селекции на устойчивость к ржавчине гаплотипы *Lr34* (+) [16].

Выводы

В целом, проведенные исследования указывают на отсутствие генов устойчивости *Sr2* и *SrCad* в «активном» аллельном состоянии у сортов пшеницы мионовской селекции. Учитывая реальность угрозы распространения

высоковирулентных рас стеблевой ржавчины в Украине, в частности расы Ug99, возникает необходимость привлечения в селекционный процесс сортов пшеницы, в том числе зарубежной селекции, содержащих *Lr34(+)*, *Sr2* и *SrCad* гены для получения в конечном итоге сортов, устойчивых к большинству высоковирулентных рас стеблевой ржавчины.

Литература

1. McIntosh R.A., Wellings C.R., Park Wheat R.F. Rusts: an atlas of resistance genes. — CSIRO, Australia. — 1995. — 205 p.
2. Leonard K.J. Stem rust-future enemy? // Stem Rust of Wheat: from Ancient Enemy to Modern Foe. — Peterson, P.D., ed. — 2001. — P. 119–146.
3. Saari, E.E., Prescott, J.M. World distribution in relation to economic losses // «The Cereal Rusts, Vol. II: Diseases, Distribution, Epidemiology, and Control» (A. P. Roelfs and W. R. Bushnell, eds.) — Acad. Press, Orlando. — 1985. — P. 259–298.
4. Pretorius Z.A., Singh R.P., Wagoire W.W., Payne T.S. Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene *Sr31* in *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in Uganda // Plant Diseases. — 2000. — vol. 84. — P. 203.
5. <http://maswheat.ucdavis.edu/protocols/StemRust/index.htm>.
6. McFadden E.S. A successful transfer of emmer characters to vulgare wheat // Agronomy J. — 1930. — vol. 22. — 1020–1034.
7. Hare R.A., McIntosh R.A. Genetic and cytogenetic studies of durable adult-plant resistance in Hope and related cultivars to wheat rusts // Z. Pflanzenzuecht. — vol. 83. — 1979. — P. 350–367.
8. Sunderwirth S.D., Roelfs A.P. Greenhouse evaluation of the adult plant resistance of *Sr2* to wheat stem rust // Phytopathology. — 1980. — vol. 70. — P. 634–637.
9. Brown G.N. The inheritance and expression of leaf chlorosis associated with gene *Sr2* for adult plant resistance to wheat stem rust // Euphytica. — 1997. — vol. 95. — P. 67–71.
10. Kota R., Spielmeyer W., McIntosh R.A., Lagudah E.S. Fine genetic mapping fails to dissociate durable stem rust resistance gene *Sr2* from pseudo-black chaff in common wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. — 2006. — vol. 112. — P. 492–499.
11. Spielmeyer W., Sharp P.J., Lagudah E.S. Identification and validation of markers linked to broad-spectrum stem rust resistance gene *Sr2* in wheat (*Triticum aestivum* L.) // Crop Sci. — 2003. — vol. 43. — P. 333–336.
12. Hayden M.J., Kuchel H., Chalmers K.J. Sequence tagged microsatellites for the *Xgwm533* locus provide new diagnostic markers to select for the presence of stem rust resistance gene *Sr2* in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. — 2004. — vol. 109. — P. 1641–1647.
13. Mago R., Brown-Guedira G., Dreisigacker S. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene *Sr2* in wheat // Theor. Appl. Genet. — 2011. — Vol. 122. — P. 735–744.
14. Hiebert C.W., Fetch T.G., Zegeye T., Thomas J.B., Somers D.J., Humphreys D.G., McCallum B.D., Cloutier S., Singh D., Knott D.R. Genetics and mapping of seedling resistance to Ug99 stem rust in Canadian wheat cultivars 'Peace' and 'AC Cadillac' // Theor. Appl. Genet. — 2010. — vol. 122. — P. 143–149.
15. Laroche A., Demeke T., Gaudet D.A., Puchalski B., Frick M., McKenzie R. Development of a PCR marker for rapid identification of the *Bt10* gene for common bunt resistance in wheat // Genome. — 2000. — vol. 43. — P. 217–223.

16. Карелов А. В., Пирко Я. В., Козуб Н. А., Созинов И. А., Пирко Н. Н., Литвиненко Н. А., Лыфенко С. Ф., Колочий В. Т., Блюм Я. Б., Созинов А. А. Идентификация аллельного состояния гена устойчивости к бурой ржавчине *Lr34* у сортов озимой мягкой пшеницы украинской селекции // Цитология и генетика. — 2011. — Т. 45, № 5. — С. 3–10.

17. http://molbiol.ru/protocol/14_05.html.

Резюме

Исследованы встречаемость и аллельное состояние *Sr2*, *SrCad* генов среди сортов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) мироновской селекции. В результате анализа коллекции из 43 сортов не было выявлено ни одного сорта, который бы имел *SrCad* и *Sr2* гены в «устойчивом» к стеблевой ржавчине аллельном состоянии. Этот факт указывает на необходимость поиска и привлечения в селекцию отечественных или зарубежных сортов, имеющих эти гены в «активном» аллельном состоянии.

The occurrence and the allelic state of *Sr2*, *SrCad* genes among 43 varieties of winter common wheat (*Triticum aestivum* L.) of Myronivka breeding have been studied. No wheat varieties with *SrCad* and *Sr2* genes in stem rust resistant allelic state have been identified. This fact indicates the necessity for search and involvement in breeding process of native or foreign varieties with these genes in «active» allelic state.

Досліджували частоту та алельний стан *Sr2*, *SrCad* генів у сортів озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) миронівської селекції. В результаті аналізу колекції, яка складалася з 43 сортів не було виявлено жодного сорту, що мав би *SrCad* та *Sr2* гени у «стійкому» до стеблової іржі алельному стані. Даний факт вказує на необхідність пошуку та залучення в процесі селекції вітчизняних або зарубіжних сортів, які мають ці гени в «активному» алельному стані.

КАТЕРИНЧУК О. М., ЧУГУНКОВА Т. В.

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: katerynychuks@mail.ru

РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ПЕРШОГО МУТАНТНОГО ПОКОЛІННЯ ЗА ДІЇ ХІРАЛЬНИХ МУТАГЕНІВ

Розвиток досліджень з мутаційної селекції рослин пов'язаний з відкриттям високоактивних фізичних та хімічних мутагенів. На теперішній час відома велика кількість мутагенних чинників, але у практиці застосовуються небагато з них. Кращі мутагени повинні забезпечувати отримання мутацій з високою частотою і широким спектром корисних ознак.

Хіральні сполуки, механізм дії яких пов'язаний з різною оптичною активністю стереоізомерів, є привабливими для застосування в мутаційній селекції. У 1848 році Луї Пастер відкрив оптичну ізомерію органічних речовин. У «Мемуарах про аспарагінову та яблучну кислоти» він писав про оптичну активність цих сполук, вважаючи, що наявність оптичної дисиметрії, в деякій мірі, є умовою зародження життя [12]. Розчини хіральних ізомерів здатні повертати площину поляризованого світла вправо або вліво. Так, амінокислоти повертають її вліво, а цукри, що входять до скла-

ду нуклеїнових кислот, зокрема ДНК і РНК, вправо. Тобто, мова йде про право і лівообертаючі, чи просто, про «праві» (+) та «ліві» (-) форми [17]. У 1961 році Кан, Інгольд і Прелог [3] запропонували нову систему стереохімічної конфігурації, основу якої складають R та S ізомери. Кожен з двох стереоізомерів хіральної молекули ще називається енантіомером. У біологічних об'єктах, як правило, активним є один з стереоізомерів. Зараз відомо вже не менше 130 реакцій органічного синтезу, в результаті якого отримуються більш-менш чисті хіральні ізомери [11].

Достатньо широке використання стереоізомери знайшли у фармакології. Так, застосування чистого лівообертального фармакологічно активного S (-) ізомеру амлодипіну замість рацемічної суміші має важливі переваги, бо необхідна доза і системна токсичність при цьому можуть бути знижені [1].

Продовжуються дослідження мутагенних властивостей різних речовин, в тому числі, хіральних. Так, виявлено істотні відмінності за мутагенною дією оптично чистих (+) і (-) енантіомерів діастереомерних α і β піренів у штабів сальмонели і клітин китайського хом'ячка. У сальмонели α (-) пірени були найбільш активними мутагенними сполуками і викликали у 1,3–9,5 рази більше мутацій, ніж інші оптично активні стереоізомери. У клітинах китайського хом'ячка α (+) пірен був активнішим за інші ізомери у 6–18 разів. Це були перші результати досліджень мутагенної активності серед оптичних енантіомерів [21].

Канцерогенність 1,3-бутадієну (BD) пов'язана з його біоактивними ДНК-реактивними метаболітами. Накопичені дані свідчать про те, що стереохімічна будова цих проміжних BD може відігравати значну роль у мутагенній і канцерогенній дії вихідної сполуки [18].

Хімічні речовини, що містять епоксидні групи, є дуже отруйними і в багатьох випадках мають сильні мутагенні властивості. Дуже часто такі епоксиди містять асиметричний атом вуглецю, тобто можуть існувати як рацемічні суміші оптичних ізомерів. Добре відомо, що в багатьох випадках один з двох енантіомерів відрізняється за біологічною активністю. Показано, що R і S енантіомери епоксистерину виявляють різні мутагенні властивості при дії на штами сальмонели [19].

Хіральні сполуки сечовини R- і S-1- α -метилбензил-3-C-сечовина (R- і S-MBTU) мають якісно різний вплив на фізіологічні процеси у рослин, особливо злаків. Спостерігали порушення клітинного гомеостазу, що призводило до гальмування росту коренів [15].

Дослідження α -метилбензилових р-полісечовин засвідчило, що вони змінюють різноманітні фізіологічні властивості рослин. Це було підтверджено при дослідженні дії α -метилбензолофенолсечовини на ріст коренів рису і проса. Для рису сильнішим інгібітором був R енантіомер, а для проса S енантіомер [14].

Порівняння генотоксичності оптичних ізомерів 9 епоксидів (18 стереоізомерів) *in vitro* та *in vivo* показало, що всі стереоізомери виявляють генотоксичний ефект на сальмонелу в умовах *in vitro*, 13 стереоізомерів викликають збільшення частоти хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку мишей, у порівнянні з контролем. Висловлюється припущення про те, що різниця в дії стереоізомерів пов'язана з особливостями їх взаємодії з ДНК [20].

На сьогодні немає даних щодо мутагенної активності (+), (-) і ($\pm$) форм N-нітрозозалкілсечовин, а нітрозометилвторбутилсечовина досліджувалась лише на *Salmonella typhimurium* і тільки в рацемічній формі [16]. За даними Р.Г. Костяновського [10] найбільш високу активність має енантіомер R (-) НМвБС у концентраціях 0,01 та 0,05 моль/л. У концентрації 0,05 моль/л частота мутацій у два рази вища у порівнянні з S (+) НМвБС. У дослідженнях не виявлено прямої кореляції між мутагенною та цитотоксичною активністю.

Метою наших досліджень було вивчення особливостей росту та розвитку рослин озимої м'якої пшениці покоління M_1 за дії хіральних стереоізомерів. Зокрема, визначення впливу різних доз на польову схожість насіння, виживання рослин пшениці після весняного відновлення вегетації, аналіз дії хіральних мутагенів на елементи структури врожаю озимої м'якої пшениці.

Матеріали і методи

Дослідження були проведені у відділі генетичного поліпшення рослин ІФРГ НАН України. Об'єктом дослідження були сорти озимої м'якої пшениці Кірена (вітчизняної селекції) і Federer (чеської селекції) [13]. Хіральні мутагени S (+)- і R (-)- 1-N-нітрозо-1-N-метил-3-N-втор-бутилсечовина [S (+)НМвБС] та [R (-)НМвБС] синтезовані в лабораторії стереохімії Інституту хімічної фізики ім. М.М. Семенова РАН та люб'язно надані д. х.н. Р.Г. Костяновським для проведення експериментів. Автори вдячні за надані мутагени.

Насіння (по 1000 зерен у кожному варіанті досліду) обробляли хіральними мутагенами у концентраціях 0,005; 0,01; 0,03; 0,05 % за методикою [5]. Контролем було насіння відповідного сорту, оброблене водою. Експозиція при обробці насіння хімічними мутагенами складала 18 год [2]. Після обробки насіння промивали проточною водою, висівали в підготовлений ґрунт у полі.

Рослини першого мутантного покоління (M_1) вирощували на полях дослідного господарства Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (сmt Глеваха Васильківського району Київської області). Визначення польової схожості насіння та виживаності рослин проводили за стандартною методикою. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за [4, 9].

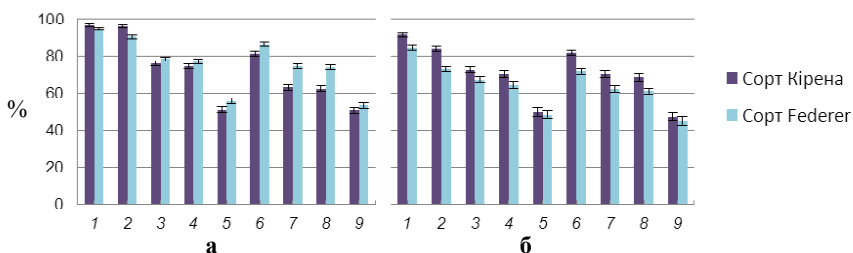


Рис. Польова схожість насіння обробленого мутагенами (а) та виживання рослин після весняного відновлення вегетації (б). Варіанти: 1 — контроль, 2 — R (-) НМвБС 0,005 %, 3 — R (-) НМвБС 0,01 %, 4 — R (-) НМвБС 0,03 %, 5 — R (-) НМвБС 0,05 %, 6 — S (+) НМвБС 0,005 %, 7 — S (+) НМвБС 0,01 %, 8 — S (+) НМвБС 0,03 %, 9 — S (+) НМвБС 0,05 %.

Результати та обговорення

Дослідження реакції рослин озимої м'якої пшениці першого мутантного покоління на дію хіральних R (-) та S (+) стереоізомерів розпочали з аналізу польової схожості насіння. Цей показник залежить від дози та природи мутагенного чинника і свідчить про токсичність мутагена [6–8]. Результати вивчення польової схожості насіння сортів Кірена та Federer представлені на рисунку. Майже в усіх варіантах обробки насіння мутагенами, виявлено зниження польової схожості насіння в порівнянні з контролем (рис. а). Винятком були варіанти обробки R (-)НМвБС у найнижчих концентраціях (0,005 %). Спостерігається лінійна залежність між дозою та польовою схожістю насіння. Максимальні концентрації (0,05 %) обох мутагенів найбільше пригнічували схожість насіння, у сорту Кірена вона становила 50,7 %, а у сорту Federer — 53,5 %.

Низькі значення польової схожості після обробки мутагенами у концентрації 0,05 % вказують на те, що максимальні дози, які використовували у дослідженнях, наближаються до критичних для озимої пшениці. Спостерігали деякі відмінності у реакції сортів на дію стереоізомерів. Сорт Federer за польовою схожістю насіння виявився більш стійким до дії мутагенів, ніж сорт Кірена.

Було проаналізовано виживання рослин пшениці після весняного відновлення вегетації (рис. б). Спостерігали майже лінійну залежність зниження виживаності рослин від концентрації мутагенів. В усіх дослідних варіантах виявлено достовірне зниження рівня виживання рослин у порівнянні з контролем. Найбільш низький показник виживання був у варіантах обробки стереоізомерами R (-) та S (+) у концентрації 0,05 %.

У рослин першого мутантного покоління, що вирости з насіння, обробленого хіральними мутагенами, спостерігали відмінності за висотою в порівнянні з контролем (таблиця). Максимальне зниження висоти рослин

обох досліджуваних сортів пшениці, на рівні 10 см, спостерігали при обробці S (+) стереоізомером у концентрації 0,05 %.

Таблиця

Вплив мутагенів на висоту рослин та структуру врожаю

Варіант	Висота рослин, см		Кількість колосків на головному колосі, шт.		Маса зерна з головного колоса, г		Маса 1000 зерен, г	
	Кірена	Federer	Кірена	Federer	Кірена	Federer	Кірена	Federer
Контроль	76,2	80,0	16,4	16,6	1,9	1,9	44,2	45,3
R (-) НМвБС								
0,005 %	76,4	77,1	15,7	16,3	1,8	1,9	44,5	44,8
0,01 %	76,1	73,6	16,1	15,9	1,7	1,8	43,0	44,7
0,03 %	70,5	75,5	15,3	15,7	1,5	1,8	43,3	44,5
0,05 %	70,6	71,1	14,1	15,6	1,4	1,6	40,1	44,2
S (+) НМвБС								
0,005 %	72,4	74,4	15,6	15,8	1,7	1,8	43,0	45,0
0,01 %	71,7	73,1	15,6	15,6	1,7	1,7	41,7	44,8
0,03 %	65,9	72,8	15,5	15,4	1,6	1,5	40,7	44,3
0,05 %	63,6	70,0	14,5	15,6	1,6	1,5	40,5	44,0
НСР ₀₅	1,44	1,2	0,69	0,72	0,15	0,16	0,51	0,77

Такі показники структури продуктивності рослин як кількість колосків та маса зерна з головного колоса, маса 1000 зерен виявились більш чутливими до впливу мутагенних чинників, ніж інші. Спостерігали сортову специфіку у реакції рослин на дію хіральних мутагенів. За кількістю колосків у головному колосі сорт Federer достовірно не відрізнявся від контролю. У сорту Кірена достовірне зниження кількості колосків у колосі спостерігали у варіантах обробки найбільш високими (0,05 %) дозами як R (-), так і S (+) стереоізомерів. Маса зерна з головного колоса не перевищувала контроль у рослин обох досліджуваних сортів. Суттєве зниження маси 1000 зерен спостерігали при дії хіральних мутагенів у максимальних концентраціях лише у сорту Кірена.

Таким чином, вперше досліджено вплив хіральних нітрозометилвторбутіл-сечовин на рослини. Відмічено залежність між показниками схожості і виживання рослин пшениці та концентрацією мутагенів. За максимальних концентрацій хіральних мутагенів виявляється значна депресія росту та розвитку рослин озимої пшениці. Визначено найбільш чутливі елементи структури врожаю до дії стереоізомерів.

Література

1. Арсеньєва К. Е. S (-) амлодипин: новые возможности фармакотерапии артериальной гипертензии // РМЖ. — 2008. — **21**, № 16. — С. 1466–1496.
2. Артемчук І. П., Логвиненко В. Ф. Вплив експозиції дії мутагенів на частоту мутацій озимої пшениці // Физиология и биохимия культ. растений. — 2003. — **35**, № 3. — С. 222–228.

3. *Воронков Л. Г.* Клиническое использование хиральных молекул как новое направление в кардиоваскулярной медицине // Здоров'я України. — 2007. — № 21/1 (додатковий). — С. 31–32

4. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.

5. *Зоз Н. Н.* Методика использования химических мутагенов в селекции сельскохозяйственных культур // Мутационная селекция. — М.: Наука, 1968. — С. 23–27.

6. *Мальченко В. В., Гуляев Г. В., Хотяновская Е. Б.* Экспериментальный мутагенез озимой пшеницы. Действие химических мутагенов на М1 и частота мутаций в М2 // Генетика. — 1976. — 12, № 2. — С. 25–35.

7. *Моргун В. В., Логвиненко В. Ф.* Мутационная селекция пшеницы. — Киев: Наук. думка, 1995. — 628 с.

8. *Оксьом В. П.* Вплив мутагенних чинників на рослини М1 озимої пшениці та його зв'язок із частотою змінених форм у другому поколінні // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — 42, № 2. — С. 153–162.

9. *Фаддеев М. А.* Элементарная обработка результатов эксперимента: Учебное пособие. Нижний Новгород: Изд-во Нижегородского госуниверситета, 2002. — 108 с.

10. *Шишлов М., Шишлова А., Шишлова Н., Добровольский С., Кубарев В.* Мутагенез и рекомбиногенез сельскохозяйственных растений // Наука и инновации: научно-практический журнал / Национальная академия наук Беларуси. — Минск: Белорусская наука. — 2009. — № 7. — С. 29–33.

11. *David A. Nicewicz, David W. C. Mac Millan* Merging. Photoredox Catalysis with Organocatalysis: The Direct Asymmetric Alkylation of Aldehydes // Science. — 2008. — 322, № 5. — P. 77–80.

12. *Flack H. D.* Louis Pasteur's discovery of molecular chirality and spontaneous resolution in 1848, together with a complete review of his crystallographic and chemical work // Acta Cryst. — 2009. — 65, A. — P. 371–389.

13. *Gzech J.* Winter wheat Federer // Genet. Plant Breed. — 2010. — 46, № 2. — P. 97–101.

14. *Hiroyoshi Omokawa, Jae Hwan Ryoo.* Enantioselective Response of Rice and Barnyard Millet on Root Growth Inhibition by Optically Active α -Methylbenzyl Phenylureas // Pesticide Biochemistry and Physiology. — 2001. — 70, № 1. — P. 1–6.

15. *Hisahiro Kojima, Takako Numata, Ryota Tadaki, Hiroyoshi Omokawa.* PCR-based suppression subtractive hybridization analyses of enantioselective gene expression in root tips of wheat treated with optically active urea compounds // Pesticide Biochemistry and Physiology. — 2010. — 98, № 3. — P. 359–369.

16. *Isobe M., Yano K.* Comparison of mutagenicity and chemical properties of N-methyl-N'-alkyl-N-nitrosoureas // Mutat. Res. — 1982. — 93, № 1. — P. 57–66.

17. *Jones N.* Scientists learn to tell left from right // New Scientist, 2002. — № 2329. — P. 19.

18. *Meng Q, Redetzke DL, Hackfeld LC, Hodge RP, Walker DM, Walker VE.* Mutagenicity of stereochemical configurations of 1,2-epoxybutene and 1,2:3,4-diepoxybutane in human lymphoblastoid cells // Chemico-Biological Interactions. — 2007. — 166, № 1–3. — P. 207–218.

19. *Quanxin Meng, Diana L. Redetzke, Linda C. Hackfeld, Richard P. Hodge, Dale M. Walker, Vernon E. Walker.* Chirality-dependent DNA reactivity as the possible

cause of the differential mutagenicity of the two components in an enantiomeric pair of epoxides // *Mutat Res. Seiler JP.* — 1990. — **245**, № 3. — P. 165–174.

20. *Sinsheimer J. E., Chen R., Das S. K., Hooberman B. H., Osorio S., You Z.* The genotoxicity of enantiomeric aliphatic epoxides // *Mutation Research / Genetic Toxicology.* — 1993. — **298**, № 3. — P. 197–206.

21. *Wood A. W., Chang R. L., Levin W., Yagi H., Thakker D. R., Jerina D. M., Conney A. H.* Differences in mutagenicity of the optical enantiomers of the diastereomeric benzo [a]pyrene 7,8-diol-9,10-epoxides // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* — 1977. — **77**, № 4. — P. 1389–1396.

Резюме

Досліджено вплив хіральних мутагенів на ріст і розвиток рослин M_1 озимої м'якої пшениці. Виявлено достовірне зниження польової схожості насіння, обробленого НМвБС, та виживання рослин після відновлення вегетації. Визначені найбільш чутливі елементи структури врожаю до дії досліджуваних мутагенів.

Исследовано влияние хиральных мутагенов на рост и развитие растений M_1 озимой мягкой пшеницы. Выявлено достоверное снижение полевой всхожести семян, обработанных НМвБМ, и выживания растений после возобновления вегетации. Определены наиболее чувствительные элементы структуры урожая к действию исследуемых мутагенов.

The influence of chiral mutagens in plant growth and development of M_1 winter wheat was investigated. A significant reduction of field germination of seeds treated by NMsBU and survival of plants after the resumption of growth were revealed. The most sensitive elements of the structure of the harvest to the impact of mutagens were identified.

КИРИКОВИЧ С. С., ЛЕВИТЕС Е. В.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт цитологии и генетики СО РАН,
Россия, 630090, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 10,
e-mail: svetak@bionet.nsc.ru*

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ АГАМОСПЕРМИИ У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS L.*)

В настоящее время известно большое число видов цветковых растений, у которых выявлена агамоспермия, представляющая собой способ размножения, основная особенность которого заключается в том, что развитие зародыша семени происходит без слияния гамет и при участии генома только одного родителя [1]. Согласно подсчетам этот способ размножения зафиксирован у более 370 родов, принадлежащих к 96 семействам [2], включающим в себя более 235 тысяч видов покрытосеменных растений [3].

Агамоспермия у сахарной свеклы впервые описана киевским исследователем Н. В. Фаворским в 1928 году, обнаружившим развитие зародышей в закрытых бутонах, свидетельствовавшее об автономном партеногенезе [4]. Хотя на наличие агамоспермии у сахарной свеклы указывали также результаты и многих других исследований [5–12], существовало мнение

о том, что агамоспермия присуща лишь полиплоидным формам культурной свеклы [13]. Скептическое отношение к существованию агамоспермии у диплоидных форм свеклы привело к тому, что в генетических исследованиях, проводимых на сахарной свекле, не учитывалось возможное совместное присутствие в одном репродукционном процессе сразу двух типов размножения (полового и агамоспермного), и, соответственно, влияние агамоспермии на соотношение фенотипов в анализируемых потомствах.

Для описания изменчивости в агамоспермных потомствах ранее был введен термин автосегрегация [1]. Первоначально автосегрегацию рассматривали как следствие каких-то нарушений в развитии агамоспермных потомств. Однако использование метода массового получения агамоспермных семян [7], а также использование удобных маркерных признаков (изоферментов) [8–12] позволили придать новый смысл термину автосегрегация. Под автосегрегацией стали подразумевать сегрегацию, обусловленную мейозом [7–12]. Обоснованием этой точки зрения явились данные об окраске гипокотыля у проростков сахарной свеклы, поскольку соотношение окрашенных и неокрашенных проростков в агамоспермном потомстве составляло 11: 3 [7]. Авторы объясняли это соотношение миксоплоидией, а именно, наличием среди основной массы диплоидных клеток спорогенной ткани примеси тетраплоидных. Если в мейоз вступает тетраплоидная клетка, то в результате образуется диплоидный зародышевый мешок с диплоидной яйцеклеткой, способной к эмбриональному развитию без оплодотворения. Вследствие этого наблюдаемое соотношение фенотипических классов в образующемся агамоспермном потомстве представляет собой соотношение гамет тетраплоида, развившихся до индивидуальных растений. В дальнейшем аналогичные соотношения у сахарной свеклы были выявлены с помощью изоферментных маркеров [8, 12]. Эти результаты подтверждают существование у сахарной свеклы такого типа размножения как мейотическая диплоспория (мейотическая агамоспермия).

У сахарной свеклы генетическим методом была обнаружена также и митотическая агамоспермия [9–12], при которой зародыш семени образуется из клеток, не прошедших мейоз. Теоретически такие потомства должны бы быть однородны, однако в них также был выявлен полиморфизм маркерных ферментов.

В настоящее время предложена еще одна модель механизма, определяющего полиморфизм в потомствах, полученных путем агамоспермии [14]. В основе этой модели лежит предположение о политении хромосом в клетках зародышевого мешка, нуцеллуса и интегументов и об удалении избыточных копий участков хроматид из клетки, начавшей эмбриональное развитие. Согласно предложенной модели потеря избыточных копий участков хроматид происходит случайным равновероятным образом. Это означает, что в клетке происходит комбинаторный процесс, в результате которого из множества копий участков хроматид остаются в начавшей эмбриональ-

ное развитие клетке только две. Для обозначения состояния локуса, у которого аллели представлены несколькими хроматидами, введено понятие полигенотип локуса, который характеризует число хромосом, число аллелей и число хроматид, несущих каждый из аллелей [15].

Как миксоплоидия, так и политения являясь основой образования агамоспермного потомства и представляя собой механизм возникновения в нем полиморфизма свидетельствуют не только о многообразии путей семенной репродукции, но и представляют собой фундамент для постановки новых экспериментов в изучении структурно-функциональной организации генома растений. В связи с этим актуальным является гарантированное получение агамоспермных потомств, которые могут служить исходным материалом для изучения механизма различных форм изменчивости, включая и эпигенетическую. Актуальность проблемы доказательности агамоспермии обусловлена тем, что на основании только цитозембриологических результатов невозможно дать определенный ответ о типе размножения. В связи с этим целью данной работы было использование генетических методов для доказательства агамоспермной природы получаемого потомства у сахарной свеклы.

Материалы и методы

В качестве материала для исследования были взяты семенные потомства, завязавшиеся на трех растениях сахарной свеклы с разной степенью цитоплазматической мужской стерильности (форма № 12), выращенных в 2011 году на изолированном участке в п. Мичуринский (НСО). Данный участок отстоял от каких-либо других растений свеклы на расстоянии более 200 метров. Растения этой формы представляли собой F_2 (урожая 2003 года) гибрида, полученного от скрещивания двух полустерильных растений, склонных как к половому, так и к агамоспермному размножению. В качестве маркерных признаков были использованы изоферменты: GPI2, ME1 и ADH1, контролируемые соответственно локусами *Gpi2*, *Mel* и *Adh1*.

Генотипы (фенотипы) этих растений по ферментным локусам были следующими:

12–2 — *Gpi2-F/Gpi2-S* (FS), *Mel-F/Mel-F* (FF), *Adh1-S/Adh1-S* (SS),

12–4 — *Gpi2-F/Gpi2-F* (FF), *Mel-S/Mel-S* (SS), *Adh1-F/Adh1-S* (FS),

12–6 — *Gpi2-F/Gpi2-F* (FF), *Mel-F/Mel-F* (FF), *Adh1-F/Adh1-F* (FF).

Наличие маркеров позволяло оценить степень изоляции, тип саморепродукции и уровень скрещиваемости растений.

Электрофоретическое разделение изоферментов в крахмальном геле и их гистохимическое выявление проводили согласно методам, описанным ранее [16].

Результаты и обсуждение

Результаты анализа семенных потомств растений формы № 12 представлены в таблице. Можно видеть, что потомство одного из растений (12–6) мономорфно по всем трем маркерным ферментам. Потомство дру-

гого растения (12–4) полиморфно по ADH1, а потомство третьего растения (12–2) полиморфно по всем трем маркерным ферментам. Контрастность и мономорфизм потомств 12–4 и 12–6 по аллелям локуса *Me1* свидетельствуют о том, что растения 12–4 и 12–6 не принимали на себя чужую пыльцу; в их потомствах отсутствуют гетерозиготы по ME1.

Таблица

Соотношения фенотипических классов изоферментов в семенных потомствах растений сахарной свеклы формы № 12

Номер растения	Соотношения фенотипических классов		
	GPI2 FF-FS-SS	ME1 FF-FS-SS	ADH1 FF-FS-SS
12–2	34–43–9	50–36–0	0–24–62
12–4	94–0–0	0–0–98	24–48–24
12–6	66–0–0	66–0–0	67–0–0

Наличие в потомстве растения 12–2 значительной доли семян (36 шт.) с гетерозиготным фенотипом FS по ME1 указывает на то, что гетерозиготы завязались в результате опыления растением 12–4. После учета этих гетерозигот в потомстве растения 12–2 были выявлены также 4 гетерозиготы по ADH1, имеющие также фенотип FF по ME1, которые следует рассматривать как результат опыления растением 12–6.

Способность растения 12–4 давать жизнеспособную пыльцу, казалось бы, указывает на то, что данное растение могло бы завязать семена от самоопыления. Однако это крайне маловероятно, поскольку сахарная свекла как вид, обладающий системой самонесовместимости, скорее всего, примет чужую пыльцу, нежели свою. Дополнительным аргументом в пользу утверждения об агамоспермной природе потомства 12–4 является тип его полиморфизма по ADH1. В данном потомстве наблюдается четкая симметричность соотношения фенотипических классов по ADH1 24FF: 48FS: 24SS, идеально совпадающего с менделевским соотношением 1:2:1 ($\chi^2 = 0$, табл.). Такой полиморфизм в потомстве можно объяснить тем, что во вступающих в эмбриогенез агамоспермным путем клетках каждый из аллелей локуса *Adh1* вследствие политенизации был представлен двумя хроматидами, и эти клетки имели полигенотип по локусу *Adh1* F_2S_2 .

Гетерозиготные фенотипы по ADH1 точно соответствовали диплоидным гетерозиготам, что указывает на диплоидную природу данного потомства. Эта симметричность указывает на то, что в образовании данных семян не участвовали собственные мужские гаметы, поскольку в таком случае при самоопылении могло бы выявиться отклонение от менделевских соотношений вследствие сцепления локуса *Adh1* с локусом, контролирующим самонесовместимость [17]. Таким образом, полученные данные ука-

зывают на то, что семенное потомство диплоидного растения 12–4 завязалось путем агамоспермии.

Гетерозиготные фенотипы по *ADH1*, выявленные у 4 семян, полученных в результате опыления растения 12–2 растением 12–6, соответствовали фенотипам диплоидных гетерозигот. Это указывает на то, что все взятые в эксперимент растения сахарной свеклы были диплоидными.

Соотношение фенотипических классов по *GPI2* в потомстве растения 12–2, полученное за вычетом фенотипов семян, образовавшихся половым путем, составляет 14FF:23FS:9SS. Оно может быть результатом либо самоопыления, либо агамоспермного размножения растения, имеющего полигаметизм F_6S_4 по локусу *Gpi2*.

Отсутствие переопыления между растениями 12–4 и 12–6 указывает на агамоспермную природу их потомств. Таким образом полученные данные можно рассматривать как генетическое доказательство наличия агамоспермии у диплоидных растений сахарной свеклы.

Литература

1. Gustafsson A. Apomixis in higher plants // Lunds. Univ. Arsskz. N. S. — Sect. 2. — 1946. — V. 42, № 3. — P. 1–67.
2. Хохлов С. С., Зайцева М. И., Куприянов П. Г. Выявление апомиктичных растений во флоре цветковых растений СССР. — Саратов, 1978. — 224 с.
3. Рейвн П., Эверт Р., Айкхорн С. Современная ботаника. — Т. 1. — М.: Мир, 1990. — 348 с.
4. Фаворский Н. В. Материалы по биологии и эмбриологии сахарной свеклы // Труды научного института селекции. — Киев, 1928. — Вып. 2. С. 3–11.
5. Зайковская Н. Э., Перетятко В. Г., Ширяева Э. И., Ярмолюк Г. И. Апомиксис у мужкостерильной сахарной свеклы // Докл. ВАСХНИЛ. — 1978. — № 3. — С. 11–13.
6. Сеилова Л. Б., Абдурахманов А. А., Камалетдинова Ф. И. Апомиксис у инбредных линий видов рода *Beta* (Chenopodiaceae) // Ботан. журнал. — 1989. — Т. 74, № 5. — С. 700–702.
7. Малецкий С. И., Малецкая Е. И. Самофертильность и агамоспермия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. — 1996. — Т. 32, № 12. — С. 1643–1650.
8. Малецкий С. И., Левитес Е. В., Малецкая Е. И., Овечкина О. Н. Автосегрегация и сцепленное наследование в агамоспермных потомствах сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. — 1998. — Т. 34, № 4. — С. 520–527.
9. Levites E. V. New classification of the reproduction modes in sugar beet // Sugar Tech. — 2002. — V. 4, № 1–2. — P. 45–51.
10. Левитес Е. В., Шкутник Т., Овечкина О. Н., Малецкий С. И. Псевдосегрегация в агамоспермных потомствах пыльцестерильных растений сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Докл. РАН. — 1998. — Т. 362, № 3. — С. 430–432.
11. Levites E. V., Denisova F. Sh., Kirikovich S. S. and Judanova S. S. (Maletskaya S. S.) Ratios of phenotypes at the *Adh1* locus in the apozygotic offspring in sugarbeet (C_1 generation) // Sugar Tech. — 2000. — V. 2, № 4. — P. 26–30.
12. Szkutnik T. Apomixis in the sugar beet reproduction system // Acta Biol. Cracoviensia Series Botanica. — 2010. — V. 52, № 1. — P. 87–96.

13. Jassem B. Apomixis in the genus *Beta* // Apomixis Newslett. — 1990. — V. 2, № 19. — P. 7–23.

14. Levites E. V. Sugarbeet plants produced by agamospermy as a model for studying genome structure and function in higher plants // Sugar Tech. — 2005. — V. 7, № 2–3. — P. 67–70.

15. Левитес Е. В., Кирикович С. С. Автосегрегация ферментных локусов в агамоспермных потомствах триплоидных растений сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. — 2011. — Т. 47, № 7. — С. 945–951.

16. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений. — Новосибирск: Наука, 1986. — 144 с.

17. Малецкий С. И., Коновалов А. А. Наследование алкогольдегидрогеназы у сахарной свеклы. Сообщение 1: Анализ отклонений от моногенного расщепления // Генетика. — 1985. — Т. 21, № 9. — С. 1527–1534.

Резюме

Исследовано соотношение фенотипических классов в потомстве трех диплоидных растений одной формы сахарной свеклы, выращенных на изолированном участке. С помощью маркерных изоферментов показано, что близкородственные диплоидные растения сахарной свеклы могут завязывать семена как половым, так и агамоспермным путем.

The phenotypic classes ratios in the agamospermous progenies of three diploid plants of the same sugar beet form grown on the isolated plot were studied. It was shown with isozyme markers that the closely-related diploid plants can produce seeds by both sexual and agamospermous way.

КОВАЛИШИНА Г. М., САБАДИН В. Я., МУХА Т. І., МУРАШКО Л. А.

Миронівський інститут пшениці імені В. М. Ремесла НААН,

Україна, 08853, Київська область, Миронівський район, с. Центральне,

e-mail: mwheats@ukr.net; mironovka@mail.ru

ДОНОРИ СТІЙКОСТІ ПРОТИ ОСНОВНИХ ЗБУДНИКІВ ХВОРОБ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ТА ЯРОГО ЯЧМЕНЮ В ПРАВОБЕРЕЖНОМУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Вирощування зернових культур ускладнюється цілою низкою чинників, серед яких на одному з перших місць — погіршення фітосанітарного стану посівів [1]. Одним із основних елементів збільшення урожайності зернових культур є селекція нових, екологічно пластичних, стійких до збудників хвороб сортів. Успіх селекційної роботи у створенні стійких сортів визначається використанням перевірених в умовах регіону джерел і донорів стійкості пшениці і ячменю до збудників основних хвороб. Сорт з комплексною стійкістю може дати приріст урожаю в 1–1,5 т/га без застосування засобів захисту [2,3].

У зоні Лісостепу України найбільш поширеними і шкодочинними залишаються хвороби: борошниста роса, бура іржа, тверда сажка і септоріоз.

За сприятливих для їх розвитку умов, вони можуть спричинити значні втрати врожаю зерна та погіршення якості борошна і хліба [4].

Аналіз сучасного асортименту районованих сортів свідчить про наявність незначної кількості сортів, які володіють стійкістю щодо хвороб. Екосистеми, як функціональне ціле живих організмів і середовища, більш стабільні при більшій різноманітності генотипів рослин. Селекція стійких сортів є найбільш раціональним способом боротьби з хворобами. Але в процесі селекційної роботи паразитні організми, через деякий час, переборюють стійкість сортів. Ця властивість пов'язана з відношенням між паразитом і господарем за принципом «ген для гену». Раси паразита, вірулентні до окремого гену стійкості, спроможні уражувати всі сорти, захищені цим геном. Тому, в процесі селекції і вирощування стійких сортів безперервно витрачаються гени стійкості і їх запас потребує подальшого поновлення.

Вивчення сортів і зразків світової колекції Національного центру генетичних ресурсів рослин України, нових сортів селекційних установ на штучних інфекційних фонах збудників хвороб дозволяє виявити нові генетично різнірідні джерела стійкості до основних патогенів.

Методи досліджень

Робота проводилась в умовах штучної інокуляції збудниками хвороб в польових інфекційних розсадниках за методиками Е.Е. Гешеле, В.І. Кривченка [5,6]. Оцінку стійкості рослин озимої пшениці та ярого ячменю до збудників хвороб проводили згідно загальноприйнятих методик [7]. Для визначення дії кліматичних факторів, зокрема кількості опадів і температури, на розвиток хвороб застосовували гідротермічний коефіцієнт — ГТК [8].

Результати досліджень

Погодні умови квітня-червня 2007 р. не були сприятливими для розвитку збудників хвороб, ГТК мав значення 0,9 що свідчить про недостатнє зволоження. У 2008, 2009, 2010 рр. погодні умови сприяли розвитку та поширенню збудників хвороб, за рівнем ГТК відмічено оптимальне зволоження, відповідно 1,4; 1,3; 1,1. Погодні умови 2011 р. не сприяли розвитку хвороб завдяки високій температурі повітря та низькій кількості опадів, ГТК з квітня по третю декаду червня становив 0,9 — це недостатнє зволоження.

У колекційному розсаднику стійких форм до твердої сажки (*Tilletia caries* Tul) за 2007–2011 рр. вивчено 916 колекційних сортозразків озимої пшениці. Високою стійкістю характеризувалися сортозразки захищені ефективними генами стійкості: Sel.M 65–3157, Sel. M. 66–23, Лютесценс 6028, Еритроспермум 5221, Ферругінеум 220/85, Еритроспермум 4318/88, Еритроспермум 6089, Ферругінеум 124–88 (табл. 1). При вивченні популяції *Tilletia caries* встановлено, що місцева популяція авірулентна, або слабо вірулентна до генів стійкості, цінність для селекції становлять гени: Bt 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21.

Протягом 2007–2011 рр. на штучному інфекційному фоні збудника бурї іржі (*Puccinia recondita* Rob. et Desm) вивчали 1382 колекційних сортотразки озимої пшениці.

Високу стійкість проявили сортотразки захищені ефективними генами стійкості: Mc Nair 2203, Agrus, Flex, V1275, Century, TAM — 200 та ін. (табл. 2).

Таблиця 1

Характеристика за стійкістю проти твердої сажки колекційних сортотразків озимої пшениці з відомими Bt-генами, 2007–2011 рр.

Сорт, лінія	Походження	Bt-гени	Ураження твердою сажкою, %			Бал стійкості
			мінімальне	максимальне	середнє	
Миронівська 808-стандарт	МПП	-	50,0	80,0	68,0	3
Turkey (CI1558 I B)	США	Bt4	0	8	3,2	8
Sel.3432 x Elgin	США	Bt5	0	6	3,8	8
Rio (CI 100 64)	США	Bt6	0	6	3,2	8
Pi 178210	США	Bt8	0,1	8	3,2	8
Sel. M. 65–3157	США	Bt9	0	0	0	9
Sel. M. 66–23	США	Bt10,11	0	0	0	9
Лютеценс 6028	МПП	Bt12,13	0	3	1,4	8
Еритроспермум 5221	МПП	Bt14	0	3	0,9	8
Ферругінеум 220/85	СГІ	Bt15,16	0	0	0	9
Еритроспермум 4318/88	СГІ	Bt17	0	1	0,2	8
Еритроспермум 60–89	СГІ	Bt18,19	0	1	0,7	8
Ферругінеум 124–88	СГІ	Bt20,21	0	1	0,2	8
Зоря	Росія	BtZ	0	10	3,8	8

Таблиця 2

Характеристика за стійкістю проти бурї іржі колекційних сортотразків озимої пшениці з відомими Lr-генами, 2007–2011 рр.

Сорт	Походження	Lr-гени	Ураження бурюю іржею, %			Бал стійкості
			мінімальне	максимальне	середнє	
Миронівська 10-стандарт	МПП	-	15,0	60,0	33,0	4
Arthur 71	США	Lr 9	0	1,0	1,2	8
Mc Nair 2203	США	Lr 9	0	0	0	9
Agrus	США	Lr19	0	0	0	9
Flex	США	Lr19	0	0	0	9
V 1275	Франція	Lr19	0	0	0	9
VR 89 Bo22	Франція	Lr19	0	0,1	0,02	8
Osage	США	Lr24	0	5,0	2,0	8
BlueboyII	США	Lr10+Lr24	0	0	0	9
Rendezvous	Англія	Lr37	0	0	0	9
203–238	Болгарія	Lr9+Lr26	0	5,0	1,2	8
Century	США	Lr24+Lr42	0	0	0	9
TAM-200	США	Lr24+Lr43	0	0	0	9

Вивчення складу популяції *Puccinia recondita* проводили на серії ізогенних ліній ярої пшениці сорту Thatcher. Неефективними виявилися гени: Lr 1, 2a, 2c, 3, 3bg, 3ka, 10, 11, 14, 14a, 14b, 23, 26, 29, 30, 32, 34. Ступінь ураження ліній з вищеназваними генами в середньому за п'ять років складала 15–25%. Середню ефективність проявили гени: Lr 12, 13, 24, 34 — ступінь ураження ліній до 10%. Стабільно зберігають стійкість і продовжують залишатися високоефективними гени Lr 9, 19. Високоефективними є комплекси генів: Lr 9 + Lr 26, Lr 10 + Lr 24, Lr 24 + Lr 42, Lr 24 + Lr 43 та Lr 37.

У колекційному розсаднику на стійкість до борошнистої роси (*Erysiphe graminis* DS.f.sp. *tritici* Em.) за 5 років вивчили 1850 сортотразків озимої пшениці. Високу стійкість до борошнистої роси проявили Pi 170911, UH 682, Apollo, Norman, Avalon, Rendezvous, Roxana та ін. (табл. 3). Вивчаючи ефективність генів стійкості до борошнистої роси, встановили, що проти популяції збудника високу ефективність проявляють гени: Pm2 + Pm6 + Pm?, Pm2 + Pm?, Pm2 + Pm4b + Pm6; середню — Pm2 + Pm6, Pm4b, Pm4b + Pm8, Pm2 + Pm4b.

Таблиця 3

Характеристика за стійкістю проти борошнистої роси колекційних сортотразків озимої пшениці з відомими Pm-генами, 2007–2011 рр.

Сорт	Походження	Pm — гени	Ураження борошнистою росою, %			Бал стійкості
			мінімальне	максимальне	середнє	
Кепрок стандарт	США	-	20,0	40,0	34,0	4
PI 170911	США	Pm 2+Pm 6+Pm?	0	0	0	9
UH 682	Чехія	Pm 2+Pm 4b	1,0	8,0	3,2	8
Fakta	Німеччина	Pm 4b	3,0	8,0	5,0	7
Apollo	Німеччина	Pm 2+Pm 4b+Pm 8	2,0	7,0	4,0	8
TAM-200	США	Pm 17	0	10,0	5,0	7
Norman	Англія	Pm2 + Pm16	0	8,0	2,0	8
Avalon	Англія	Pm2 + Pm?	0	2,0	0,6	8
Rendezvous	Англія	Pm 2+Pm4b+Pm6	0	3,0	0,8	8
Roxana	Чехія	Pm 5+Pm8+Pm4 b	0	8,0	3,8	8

У колекційному розсаднику ярого ячменю протягом 5 років на провокаційному фоні виділено ряд сортотразків з відомими генами стійкості до збудника борошнистої роси (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). Високою стійкістю характеризувалися сортотразки захищені генами стійкості: Adonis, Auriga, Barke, Bojos, Cristallia, Class, Eunova, Josefin та ін. (табл. 4). Вивчаючи ефективність генів стійкості до борошнистої роси встановили, що проти популяції збудника високу ефективність проявляють рецесивні гени mlo: mlo₉, mlo₁₁ та комбінація генів: mlo+Mla13+Ml (La), Mlg+mlo₁₁, mlo₁₁+ mlo₇, mlo+Mla12, mlo+Mla1. Високостійкі та стійкі сортотразки

до збудника борошнистої роси Aspen, Danuta, Eunova, Pejas, Salome, Sara, Sebastian проявили стійкість ще й до 2–3 збудників плямистостей листя.

Таблиця 4

Характеристика за стійкістю проти борошнистої роси колекційних сортозразків ярого ячменю з відомими генами, 2007–2011 рр.

Сорт	Походження	Відомі гени	Ураження борошнистою росою, %			Бал стійкості
			мінімальне	максимальне	середнє	
Паллідум 107 стандарт	Україна	-	25,0	60,0	45,0	3
Adonis	Великобр.	mlo ₉	2,0	5,0	3,8	8
Auriga	Австрія	mlo ₉	2,0	3,0	2,6	8
Barke	Німеччина	mlo ₉	1,0	5,0	3,2	8
Bojos	Німеччина	mlo ₁₁	0	1,0	0,5	8
Aspen	Німеччина	mlo ₁₁	3,0	8,0	4,8	8
Cristallia	Німеччина	mlo ₁₁	0	3,0	1,3	8
Class	Німеччина	mlo ₁₁	0	2,0	1,3	8
Danuta	Німеччина	mlo ₁₁	2,0	5,0	3,4	8
Eunova	Австрія	mlo ₁₁	0	2,0	1,0	8
Josefin	Франція	mlo ₁₁	0	2,0	0,8	8
Braemar	Великобр.	mlo+Mla13+Ml (La)	1,0	5,0	2,5	8
Madeira	Німеччина	mlo+Mla12	2,0	5,0	3,4	8
Prestige	Великобр.	mlo+Mla1	0	4,0	1,8	8
Salome	Німеччина	mlo ₁₁ + mlo ₇	2,0	10,0	5,6	7

Висновки

1. Для селекції на стійкість до збудників хвороб озимої пшениці виділені донори захищені ефективними генами стійкості: Sel.M 65–3751 (Bt9), Sel.M. 66–23 (Bt10,11), Ферругінеум 220/85 (Bt15,16), Еритроспермум 4318/88 (Bt17), Еритроспермум 60–89 (Bt 18,19), Ферругінеум 124–88 (Bt20,21), Arthur 71, Mc Nair 2203 (Lr 9), Agrus, Flex, V 1275, VR 89 Bo22 (Lr19), BlueboyII (Lr10+Lr24), Rendezvous (Lr 37, Pm2 + Pm4b + Pm6), Century (Lr 24 +Lr 42), TAM — 200 (Lr 24+Lr 43), PI 170911 (Pm2 + Pm6 + Pm?), Avalon (Pm2 + Pm?); ярого ячменю: Adonis, Auriga, Barke (mlo₉), Bojos, Aspen, Cristallia, Class, Danuta, Eunova, Josefin (mlo₁₁), Braemar (mlo+Mla13+Ml (La)), Madeira (mlo+Mla12), Prestige (mlo+Mla1).

2. Вивчено видовий склад популяцій збудників хвороб озимої пшениці і встановлено, що високоефективними генами у правобережному Лісостепу України проти твердої сажки є: Bt 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15,16, 17,18, 19, 20, 21; проти бурої іржі: Lr 9, 19, 25, Lr10+Lr24, Lr 9+Lr 26, Lr 24 +Lr 42, Lr 24+Lr 43; проти борошнистої роси комплекс генів: Pm2 + Pm6 + Pm?, Pm2 + Pm?, Pm2 + Pm4b + Pm16. Проти борошнистої роси ярого ячменю висо-

ку ефективність проявляють рецесивні гени mlo_9 і mlo_{11} та комбінація генів: $mlo+Mla13+Ml$ (La), $Mlg+mlo_{11}$, $mlo_{11}+mlo_7$, $mlo+Mla12$, $mlo+Mla1$.

Література

1. Ретьман С.В. Фітосанітарний стан зернових колосових / С.В. Ретьман, С.В. Довгань // Карантин і захист рослин. — 2010. — № 3. — С. 2–5.
2. Трибель С.О. Стійкі сорти. Зменшення енергомісткості і втрат урожаїв від шкідливих організмів за допомогою селекції / С.О. Трибель // Насінництво. — 2006. — № 4. — С. 18–20.
3. Трибель С.О. Методологія оцінювання стійкості сортів пшениці проти шкідників і збудників хвороб / С.О. Трибель, М.В. Гетьман, О.О. Стригун, Г.М. Ковалишина, А.В. Андрущенко // За редакцією С.О. Трибеля. — К.: Колобій, 2010. — 392 с.
4. Ковалишина Г.М. Вплив метеорологічних факторів на ступінь ураження мисливських сортів озимої пшениці бурю іржею / Г.М. Ковалишина // Захист і карантин рослин. — 2006. — Вип. 52. — С. 101–109.
5. Гешеле Э.Э. Методическое руководство по фитопатологической оценке зерновых культур / Э.Э. Гешеле. — Одеса, 1971. — 180 с.
6. Кривченко В.И. Изучение устойчивости злаковых культур к мучнистой росе / В.И. Кривченко, Э.Х. Сужанбердина, В.А. Вершинина, Т.В. Лебедев // Методические указания. — Л., 1980–9 с.
7. Бабаянц Л.Т., Мештерхази А., Вехтер Ф. и др. Методы селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах-членах СЭВ / Л.Т. Бабаянц, А. Мештерхази, О. Вехтер и др. — Прага. — 1988. — 321 с.
8. Методики випробування і застосування пестицидів // С.О. Трибель, Д.Д. Сігарьова, М.П. Секун, О.О. Іваненко та ін. За ред. проф. С.О. Трибеля. — К.: Світ, 2001. — 448 с.

Резюме

Виділено донори стійкості проти збудників хвороб озимої пшениці, які захищені ефективними генами стійкості: Sel.M 65–3751 (Bt9), Sel.M. 66–23 (Bt10,11), Ферругінеум 220/85 (Bt15,16), Mc Nair 2203 (Lr9), Flex (Lr19), BlueboyII (Lr10+Lr24), Rendezvous (Lr37, Pm2+Pm4b+Pm6), Century (Lr 24 +Lr 42), TAM — 200 (Lr 24+Lr 43), Avalon (Pm2 + Pm?); донори ярого ячменю: Adonis, Barke (mlo_9), Bojos, Aspen, Josefín (mlo_{11}) та ін.

Выделены доноры устойчивости к возбудителям болезней озимой пшеницы, которые защищены эффективными генами устойчивости: Sel.M 65–3751 (Bt9), Sel.M. 66–23 (Bt10,11), Ферругинеум 220/85 (Bt15,16), Mc Nair 2203 (Lr9), Flex (Lr19), BlueboyII (Lr10+Lr24), Rendezvous (Lr37, Pm2+Pm4b+Pm6), Century (Lr 24 +Lr 42), TAM — 200 (Lr 24+Lr 43), Avalon (Pm2 + Pm?); доноры ярового ячменя: Adonis, Barke (mlo_9), Bojos, Aspen, Josefín (mlo_{11}) и др.

Donors of winter wheat resistance against causal agents being protected with efficient genes Sel.M 65–3751 (Bt9), Sel.M. 66–23 (Bt10,11), Ferrugineum 220/85 (Bt15,16), Mc Nair 2203 (Lr9), Flex (Lr19), Blueboy II (Lr10+Lr24), Rendezvous (Lr37, Pm2+Pm4b+Pm6), Century (Lr 24 +Lr 42), TAM — 200 (Lr 24+Lr 43), Avalon (Pm2 + Pm?) as well as donors of spring barley Adonis, Barke (mlo_9), Bojos, Aspen, Josefín (mlo_{11}) have been identified.

КОЗАЧЕНКО М. Р.

Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН,

Україна, 61128, Харків, проспект Московський, 142, e-mail: yuriev1908@gmail.com

СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА СТВОРЕННЯ НОВИХ ФОРМ ЯЧМЕНЮ ВАКСІ

Селекцію ячменю з крохмалем воскоподібного типу проводять в США, Канаді, Японії, Кореї, Австралії, Чехії та інших країнах [1–3]. В Україні селекцію ячменю в такому напрямі раніше практично не проводили і сорти ячменю з крохмалем воскоподібного типу в Державному Реєстрі сортів рослин, придатних для поширення в Україні, відсутні [4].

Матеріали і методи

Як вихідний матеріал для схрещування використано колекційні зразки з геном wx, що зумовлює високий вміст амілопектину в крохмалі: UA 0804955, UA 039699, UA 039701, UA 039748, IR 6912.

Компонентами для схрещування були також сорти і зразки зі звичайним вмістом амілопектину в крохмалі: зразки IR 6576, IR 6586 короткоостий 83–47–6, безоста лінії 65–393, сорти Philadelphia, Джерело, Етикет, Вакула.

Діалельні схрещування 13 указаних форм проведено в 2006–2008 рр. У 2005 р. проведено схрещування за схемою топкросів.

Досліджували одержані лінії за вмістом амілопектину в крохмалі, урожайністю (т/га), стійкістю до вилягання (в балах), продуктивністю рослин та її структурними елементами, для чого аналізували по 50 рослин у двох повтореннях. $НР_{0,5}$ визначали за дисперсійним аналізом по Б. А. Доспехову [5].

Результати та обговорення

Визначено біохімічні особливості 13 зразків ячменю ярого за фракційним складом крохмалю. Показано, що зразки UA 0804955, UA 039699, UA 039701, UA 039748, IR 6912 мають високий вміст амілопектину в крохмалі (98,3–99,5%), а сорти Philadelphia, Джерело, Етикет, Вакула, колекційні зразки IR 6576, IR 6586, мутант короткоостий 83–47–6, безоста лінія 05–393 — звичайний вміст (70,8–73,6% в залежності від вмісту амілози в крохмалі).

Встановлено морфо-біологічні особливості 13 досліджених форм з різним вмістом амілопектину в крохмалі за неоднаковим рівнем показників дев'яти кількісних морфологічних ознак (висота, продуктивна кущистість, маса 1000 зерен, продуктивність, співвідношення маси зерна та соломи рослини, довжина, щільність, кількість і маса зерен основного колосу).

Високий рівень показників ознак продуктивності та її структурних елементів (продуктивна кущистість, кількість зерен основного колосу, маса 1000 зерен) був, в основному, у сортів Джерело і Етикет, а за більшістю із цих ознак також у сортів Вакула, Philadelphia. Найбільша кількість ознак з

високим рівнем із всіх дев'яти ознак була у сортів Джерело, Етикет, Вакула (відповідно 6, 6 і 4 ознаки), які цінні для передачі цінних ознак при використанні в комбінаційній селекції.

Зразки з амілопектиновим крохмалем, а також голозерні, короткоостий і безостий не мають високого рівня показників за більшістю кількісних ознак, а тому їх доцільно схрещувати із сортами з високим рівнем цінних ознак.

Показано неоднаковий рівень варіабельності кількісних ознак у 2008–2009 рр.: низький за вмістом амілопектину в крохмалі ($V = 5,0\text{--}5,2\%$) і щільністю основного колосу ($V = 5,4\text{--}5,8\%$), невисокий — за висотою рослин ($V = 17,0\text{--}19,4\%$) і масою 1000 зерен ($V = 14,7\text{--}20,1\%$), високий — за продуктивною кущистістю ($V = 24,3\text{--}27,0\%$) і співвідношенням маси зерна і соломки ($V = 27,4\text{--}28,3\%$), дуже високий — за продуктивністю рослин ($V = 38,7\text{--}40,1\%$), кількістю ($V = 38,1\text{--}42,1\%$) і масою зерен основного колосу ($V = 28,9\text{--}39,1\%$).

Показано достовірно позитивну залежність продуктивності рослин від маси зерна і щільності основного колосу, співвідношенні маси зерна і соломки.

Показано успадкування морфологічних якісних ознак і ознаки вмісту амілопектину в крохмалі в F_1 гібридів топкросів і діалельних схрещувань між зразками з різним вмістом амілопектину в крохмалі: підтверджено загальні закономірності домінування зазубленості остюків, дворядності з розвитком рудиментів остюків у латеральних колосків в F_1 від схрещування дворядних і багаторядних зразків, плівчастості зерна, безостості; домінування гена, який визначає в F_1 формування крохмалю зі звичайним вмістом амілопектину (70,8–73,8%) і амілози (26,2–29,2%); рецесивність гена wx , який визначає моногенне успадкування амілопектину крохмалю при розщепленні в F_2 рослин з амілопектиновим крохмалем (червоно-брунатне забарвлення у співвідношенні 1:3) та звичайним його складом (синє забарвлення).

В системі повних діалельних схрещувань встановлено селекційно-генетичні особливості ознаки вмісту амілопектину в крохмалі та кількісних морфологічних ознак п'яти зразків із амілопектиновим крохмалем і восьми зразків зі звичайним вмістом амілопектину в крохмалі за компонентами генетичної дисперсії (варіації), успадковуваністю та комбінаційною здатністю.

Встановлено, що в цілому (в середньому) у досліді за ознакою вмісту амілопектину в крохмалі адитивні і неадитивні ефекти генів близькі, так як значення компоненту D адитивних ефектів генів (176,9–178,0) неістотно перевищують показники H_1 (168,4–172,0) і H_2 (159,5–163,7) домінантних ефектів генів, а компонент H_1/D середнього ступеня домінування (0,95–0,97) і компонент $\sqrt{H_1/D}$ його міри (0,98–0,99) лише дещо менше одиниці.

Подібну закономірність виявлено і за кількісними морфологічними ознаками продуктивність (маса зерна) рослин і маса зерна основного колосу.

У протилежність указаним вище ознакам за продуктивною кущистістю, щільністю колосе та співвідношенням маси зерна і соломи переважають неадитивні ефекти генів при наддомінуванні (компоненти H_1/D і $\sqrt{H_1/D}$ більші одиниці).

Більш чітко визначено відносну частоту розподілу домінантних і рецесивних алелів за компонентом F генетичної дисперсії.

У цілому (в середньому) у досліді, тобто за більшістю досліджених форм (вісім із 13) компонент F як за ознакою вміст амілопектину в крохмалі, так і за ознаками кількісних морфологічних ознак був позитивним (більше нуля), що вказує на переважання в більшості форм домінантних ефектів генів.

Проте, окремі досліджені форми мають особливості за розподілом домінантних і рецесивних алелів генів за компонентом F відносної частоти їх розподілу за різними ознаками.

За вмістом амілопектину в крохмалі в усіх зразків ваху переважають адитивні ефекти генів при негативному значенні компоненту F як у 2008, так і в 2009 р. ($F = -300,6-376,5$), що детермінується рецесивністю гена wx. Подібну закономірність виявлено також за окремими кількісними морфологічними ознаками досліджених форм з різним вмістом амілопектину в крохмалі. При переважанні адитивних ефектів генів за певними ознаками досліджених форм у гібридів від їх схрещування більша ефективність доборів біотипів, у яких ці ознаки детермінуються рецесивними генами.

За ознакою звичайного (зниженого) вмісту амілопектину в крохмалі в усіх восьми форм без наявності гена wx при детермінації ознаки домінування гена, який визначає наявність амілози в крохмалі, а також за більшістю кількісних морфологічних ознак усіх 13 досліджених форм з різним вмістом амілопектину в крохмалі згідно позитивного значення компоненту F відносної частоти розподілу домінантних і рецесивних алелів генів переважають неадитивні (в основному домінантні) ефекти генів як у 2008, так і в 2009 р., що зумовлює проводити добори в гібридних популяціях при збільшенні їх обсягів або ж у більш пізніх поколіннях при збільшенні константних біотипів за ознаками, рівень показників яких детермінується домінантними генами.

Адитивними і неадитивними ефектами генів детермінується неоднакова кількість морфологічних (дев'ять) ознак і ознака вміст амілопектину в крохмалі (одна) стабільно за два роки (2008 і 2009 рр.): UA 0804955 — три і три ознаки відповідно, UA 039699 — одна і шість, UA 039701 — одна і сім, UA 039748 — чотири і нуль, IR 6912 — три і одна, IR 6576 — чотири і чотири, Philadelphia — одна і вісім, Джерело — нуль і вісім, Етикет — нуль і десять. Вакула — три і п'ять, IR 6586 — нуль і дев'ять, короткоостий 83-47-6 — нуль і сім, безоста лінія 05-393 — нуль і десять.

Встановлено неоднакову успадковуваність ознак досліджених форм.

Загальна мінливість, зумовлена генетичними особливостями згідно коефіцієнту успадковуваності в широкому розумінні (H^2) за більшістю кількісних морфологічних ознак і за ознакою вміст амілопектину в крохмалі всіх досліджених форм була високою ($H^2 = 0,90$, за окремими ознаками $H^2 = 0,74-0,99$ у 2008 р. і $H^2 = 0,69-0,99$ у 2009 р., а в середньому в досліді $H^2 = 0,98-0,99$, окрім ознаки щільність колосу, де $H^2 = 0,55$ у 2008 р. і відповідно $0,91-0,99$ та $0,80$ у 2009 р.).

Генетична мінливість, зумовлена адитивними ефектами генів у загальній мінливості згідно коефіцієнту успадковуваності у вузькому розумінні (h^2), була неоднаковою за окремими ознаками ($0,2-0,71$ у 2008 р. і $0,25-0,79$ у 2009 р. за кількісними морфологічними ознаками, відповідно $0,58$ і $0,57$ за вмістом амілопектину в крохмалі).

Співвідношення рівнів коефіцієнтів успадковуваності H^2 і h^2 неоднакове у різних досліджених форм і за окремими ознаками. У досліджених форм з меншою різницею між коефіцієнтами успадковуваності в широкому і вузькому розумінні при значно вищому $0,50$ значенні h^2 за певними ознаками (в основному $0,65-0,94$ у 2008 р., $0,67-0,92$ у 2009 р.) генетичну мінливість у значній мірі зумовлено і адитивними ефектами генів, коли добір за фенотипом буде ефективним, так як він близький відповідному генотипу і навпаки.

В системі повних діалельних схрещувань встановлено неоднаковий рівень ефектів загальної (ЗКЗ) і констант та ефектів специфічної комбінаційної здатності (СКЗ) за окремими кількісними морфологічними ознаками та вмістом амілопектину в крохмалі 13 досліджених форм з різним його вмістом.

Високі позитивні ефекти ЗКЗ, а значить найбільшу кількість алелів генів, що позитивно визначають величину показника мали ознаки всі 5 зразків з амілопектиновим крохмалем ($6,44-6,66$), низькі (при найбільшій кількості генів, що негативно визначають величину цієї ознаки) — всі 8 зразків зі звичайним (зниженим) вмістом амілопектину в крохмалі ($-3,43$ — $-4,70$). Досліджені форми мають неоднакову кількість морфологічних кількісних ознак з високими і низькими рівнями ефектів ЗКЗ.

Форми з високими ефектами ЗКЗ перспективні для використання в селекції на високий рівень показників певних ознак внаслідок рекомбінацій генів, що їх детермінують.

Встановлено неоднаковий рівень констант СКЗ і неоднакове співвідношення ефектів ЗКЗ і констант СКЗ; окремі досліджені форми за певними ознаками мають високі рівні ефектів ЗКЗ і середні чи низькі рівні констант СКЗ, що зумовлює порівняно менші відмінності за ЗКЗ в гібридних комбінаціях з їх використанням.

Встановлено неоднаковий рівень ефектів СКЗ в залежності від використання компонентів схрещування з різним фракційним складом крохмалу: високий за ознакою вміст амілопектину в крохмалі в гібридах між самими зразками з крохмалем, який майже повністю складається з амілопектину

(8,34–8,98 в 2008 р., 8,25–9,19 в 2009 р.), а також між зразками зі звичайним (зниженим) вмістом амілопектину в крохмалі (2,38–4,22 в 2008 р., 2,58–4,58 в 2009 р.), що залежить від рецесивності гена *wx*, який в гомозиготності визначає високий вміст амілопектину в крохмалі; низькі — між зразками з різним фракційним складом крохмалю, (–5,71 — –7,43 в 2008 р., –5,74 — –7,82 в 2009 р.), що залежить від домінантності гена, який в гомозиготі і гетерозиготі визначає формування амілози при відповідно звичайному (зниженому) вмісті амілопектину в крохмалі.

Показано ефективність створення 40 нових ліній з високим вмістом амілопектину в крохмалі, а також 313 ліній і 684 рослини з різним фракційним складом крохмалю внаслідок комбінації цієї ознаки та кількісних і якісних морфологічних ознак у відповідності з встановленими неоднаковими морфо-біологічними і селекційно-генетичними їх особливостями у досліджених зразків.

Розширено різновиднісний склад ліній з амілопектиновим крохмалем: одержано лінії 2-х різновидностей як у вихідних зразків (*v. medium*, *v. pallidum*) і 3-х інших різновидностей (*v. submedium*, *v. rikotense*, *v. nutans*).

Висновки

Встановлено морфо-біологічні особливості, кореляцію, варіабельність кількісних та успадкування якісних морфологічних ознак, селекційно-генетичні особливості за компонентами генетичної дисперсії, рівнями і співвідношенню успадковуваності в широкому і вузькому розумінні та ефектами загальної і константами та ефектами специфічної комбінаційної здатності морфологічних кількісних ознак і ознаки вмісту амілопектину в крохмалі в F_1 гібридів від схрещування форм з різним його вмістом в крохмалі. Завдяки встановленим закономірностям показано ефективність створення нових ліній з високим вмістом амілопектину в крохмалі зерна та комбінацією кількісних ознак.

Література

1. Hylton C. M. The effect of waxy mutations of the granule-bound starch syntheses of barley and maize endosperms / C. M. Hylton, H. Denyer, P. L. Keeling, M.-T. Chang, A. M. Smith // *Planta*. — 1996. — Vol. 198. — P. 230–237.
2. Sun C. Identification of four starchbranching enzymes in barley endosperm: partial purification of forms I, II a and II b / C. Sun, P. Sathish, S. Ahlandsberg, C. Jansson // *New-Phytol.* — 1997. — Vol. 137. — P. 215–222.
3. Vaculova K. Breeding of waxy barleys using molecular markers / K. Vaculova, J. Ehrenbergerova and M. Pouch // *Czech Republic: Agriculture Research Institute Kromeriz*, 2000. — 4 p.
4. *Державний реєстр сортів рослин придатних для поширення в Україні* (витяг станом на 10.01.2012). — К., 2012. — С. 19–24.
5. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Изд. пятое, дополненное и переработанное / Б. А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.

Резюме

Показана эффективность селекции ячменя ярового с высоким содержанием амилопектина в крахмале и комплексом селекционно и хозяйственно ценных признаков методом гибридизации в системах диаллельных скрещиваний и топкроссов.

Показано ефективність селекції ячменю ярого з високим вмістом амілопектину в крохмалі та комплексом селекційно і господарсько цінних ознак методом гібридизації в системах діалельних схрещувань і топкросів.

The efficiency of the selection of spring barley lines possessing a high content of amylopectin in starch and the complex of selected and economic traits in consequence of the combinations in the systems of diallelis crosses and topcrosses have been shown.

КОЗЛОВ Н. Н., ТРУХАН В. А.

ГНУ ВИК Россельхозакадемии

Россия, 141055. МО г. Лобня, ул. Научный городок, e-mail: nnkozlov@rambler.ru

СЕЛЕКЦИЯ КОРМОВЫХ РАСТЕНИЙ В ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ УСЛОВИЯХ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

Все ценное, что мы получаем от культурных растений, является результатом сложных взаимодействия генотипа и условий внешней среды [1]. Это вынуждает нас рассматривать вопросы стратегии и тактики современной селекции сельскохозяйственных растений с позиций, по крайней мере, двух фундаментальных научных дисциплин: генетики и физиологии. Если генотип растения является субстанцией относительно постоянной, то условия внешней среды существенно изменяются на протяжении роста и развития растений. Они вызваны ярко выраженной сезонностью нашего климата, текущими изменениями погоды внутри сезона, а также климатическими (долгосрочными) изменениями.

Погода оказывает существенное влияние на такие хозяйственно-ценные признаки и свойства культурных растений, как продуктивность, кормовая ценность, устойчивость к основным болезням и вредителям, и, наконец, на экономическую рентабельность возделывания той или иной культуры [2]. Некоторые исследователи утверждают, что эффект экологической составляющей в варьировании продуктивности культурных растений достигает 80–85 %. Прежде всего это связано с тем, что современное производство кормов основано на выращивании кормовых культур в нерегулируемых условиях среды, флуктуация которых вызывает особенно сильное колебание их основных хозяйственно-ценных признаков и свойств. С одной стороны эти флуктуации связаны с изменением основных параметров погоды (текущему состоянию параметров атмосферы), а с другой стороны — с изменением климата (среднестатистическому состоянию атмосферы за длительный период времени).

Сравнение большого числа моделей динамики климатических систем, обобщение которых дано в работах [3,4,5 и др.], показало, что прогнозиру-

емые разными авторами тренды указывают на потепление климата нашей планеты в пределах 0,013–0,075 °C/год. Наиболее вероятное ожидаемое при удвоении концентрации CO² повышение глобальной равновесной температуры воздуха лежит в диапазоне от 1,5 до 5,5 °C. Согласно сценарию Вашингтона и Мичла [6], в пределах России повышение максимальных среднемесячных температур приземного слоя воздуха при удвоении концентрации CO² может составить 1–2 °C, минимальных — от 4–6 °C на большей части криолитозоны России до 8–10 °C на Чукотке и Камчатке. По сценарию Хансена [7] повышение среднегодовой температуры воздуха в пределах России составит 4–6 °C. Максимальное повышение температур воздуха ожидается на Арктическом побережье и островах Ледовитого Океана.

Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет) прогнозирует, что к 2015 году, при сохранении существующих тенденций, предполагаемые изменения климата приведут к существенным изменениям в агроклиматических условиях возделывания сельскохозяйственных культур. Повсеместно повысится теплообеспеченность (сумма активных температур возрастет на 350–400 °C), увеличиться вегетационный и безморозный период года на 10–20 дней.

Влияние Глобального потепления климата на человека носит противоречивый характер. С одной стороны, это обещает более комфортные условия жизнеобитания и проведение большинства сельскохозяйственных работ. Увеличение летнего безморозного периода позволит выращивать более широкое видовое разнообразие и более позднеспелые сорта кормовых культур (например, корнеплодов), которые, как правило, являясь и более продуктивными [1]. Важнейшей негативной особенностью ожидаемых изменений климата — практически повсеместный рост засухливости климата, почти всегда сопровождающий процесс потепления. Повторяемость засух уже к 2015 году может возрасти в 1.5–2.0 раза. И в этом случае ожидаемый рост засухливости климата может привести к существенному снижению продуктивности кормовых растений. Это будет особенно ощутимо в условиях Нечерноземья, почвы которых существенно уступают черноземам по водоудерживающей способности.

В настоящий период, чтобы сгладить отрицательные эффекты резкого изменения климата, в первую очередь, необходимо подготовить исходный материал в виде специализированных генетических коллекций. Этот материал должен отвечать тренду изменения условий внешней среды. И если мы говорим о «Глобальном потеплении», то должны иметь генетический материал, устойчивый к засухливым условиям

Наш подход к формированию специализированных коллекций должен быть осмысленным. В связи с этим мы должны сформировать идеал будущего сорта и мысленно подгонять исходный материал к его основным параметрам. Поскольку признаки и свойства, которые мы будем использовать в качестве критериев при формировании исходного материала,

являются сложными в своем физиолого-генетическом проявлении и взаимодействии, то модель идеатипа должна охватывать как можно большее количество признаков и свойств растений. В некоторых случаях опытный селекционер, хорошо разбирающийся в биологии своей культуры, может абстрактно и с высокой степенью вероятности представить морфотип будущего сорта. Еще лучше, если он будет вооружен математическими моделями, которые позволят ему с высокой точностью рассчитать основные биологические параметры будущего сорта, хорошо приспособленного к условиям внешней среды.

С физиологической точки зрения растения используют три основных способа защиты от недостатка влаги: 1) предотвращение излишней потери воды клетками (избегание высыхания), 2) перенесение высыхания, 3) избегание периода засухи.

Засухоустойчивость, это генетически определенная приспособленность, выражающаяся в способности растений переносить значительное обезвоживание за счет развития высокого водного потенциала тканей при функциональной сохранности клеточных структур, а также за счет адаптивных морфологических особенностей стебля, листьев, генеративных органов, повышающих их выносливость, толерантность к действию длительной засухи.

Различия в засухоустойчивости между отдельными сортами и культурами во многом определяются развитием корневой системы. Как минимум корневая система должна быть глубоко проникающая, чтобы использовать глубинные запасы влаги, и более разветвленной, чтобы обеспечить большую площадь водосбора.

Помимо анатомо-морфологических особенностей засухоустойчивые виды и сорта имеют биохимические механизмы защиты, способствующие в условиях засухи поддерживать достаточно высокий уровень физиологических процессов растений. Эти механизмы предотвращают обезвоживание клетки за счет накопления низкомолекулярных гидрофильных белков, связывающих значительное количество воды. Их взаимодействие с пролином, концентрация которого значительно возрастает, приводит к увеличению моносахаров, обеспечивающих детоксикацию продуктов распада (так, образующийся аммиак обезвреживается с участием возрастающих при засухе органических кислот); способствует восстановлению нарушенных структур цитоплазмы при условии сохранения от повреждения генетического аппарата клеток. Защита молекул ДНК от вредного действия обезвоживания обеспечивается частичным переводом их в пассивное состояние с помощью ядерных белков или, возможно, специальных стрессовых белков.

В первый период засухи стремительно возрастает содержание абсцизовой кислоты (АБК) в листьях, обеспечивающей закрытие устьиц, уменьшение потери воды через транспирацию. Далее, при развитии засухи АБК, активируя синтез пролина, способствует запасанию гидратной воды

в клетке, тормозит синтез РНК и белков, накапливаясь в корнях, задерживает синтез цитокинина, способствует переводу обмена веществ клеток в режим покоя.

Одним из важнейших следствий потепления климата в современный период является значительное уменьшение повторяемости зим с опасной для озимых и многолетних культур минимальной температурой воздуха. Но при этом в мягкие зимы увеличивается вероятность поражения снежной плесенью, фузариозом, склеротиниозом и другими распространенными болезнями кормовых культур. В связи с этим крайне актуально стоит вопрос о создании при ведущих селекционных центрах провокационных фонов для выделения источников и доноров устойчивости к этим болезням.

В современном кормопроизводстве в качестве генотипа выступает селекционный сорт — доминирующий объект производства кормов. По своей генетической структуре он может быть различен и это находит свое отражение в его хозяйственной ценности, и прежде всего в способности из года в год стабильно давать высокие урожаи корма.

Сорт может быть чистой линией, чистым сортом или клоном и состоять из одного генотипа или очень схожих генотипов, имеющих одинаковый фенотип. Естественно, подобные сорта имеют весьма ограниченный адаптивный потенциал, который в большей степени зависит от индивидуальной буферности (гомеостаза индивидуального развития) генотипа.

Другую группу сортов представляют различные по своей сложности популяции, включая мультилинейные сорта, сортовые смеси, сорта-популяции, синтетические сорта, гибридные сорта. Естественно, адаптивный потенциал этой группы сортов за счет аккумуляции генетической/популяционной буферности существенно выше, чем предыдущей. В условиях постоянно и резко меняющейся внешней среды эта группа сортов выглядит более перспективной [8].

В связи с трендом условий произрастания культурных видов на потепление важным вопросом в селекции является дальнейший путь продвижения: — это интенсивная сортосмена, то есть создавать сорта с узкой буферностью, но успевать за общим направлением изменения климата, получая при этом более высокие урожаи в конкретных погодных условиях; или селекция сортов с потенциально широкой буферностью, то есть со сложной генетической структурой, вплоть до использования местных природных экотипов. Создание последних приведет к усреднению, то есть к снижению продуктивности и других хозяйственно ценных признаков и свойств, по сравнению с простыми узкоспециализированными сортами. Более того, поддерживать идентичность сортов со сложной генетической структурой в процессе семеноводства практически невозможно, так как в каждом последующем поколении мы будем наблюдать отклик на все текущие изменения погоды предшествующего вегетационного сезона. Да и сам тип селекции, методы и схемы, используемые при селекции этой группы сортов,

отсылают нас в начало прошлого века в период аналитической селекции. В этом плане перспективным выглядит схема создания гетерозисных гибридов с использованием фенотипических и ДНК маркеров, которые позволяют контролировать процессы опыления в создаваемых популяциях. Гибридные сорта кукурузы нам хорошо известны. Но селекция на гетерозис многолетних кормовых культур особенно перспективна, так как эффект гетерозиса одного и того же поколения мы можем использовать в течение многих лет: — от 3 у клевера лугового до 10 у овсяницы луговой.

Еще одним из перспективных методов создания сортов многолетних кормовых культур является метод формирования мультилинейных сортов у самоопылителей. Однако, создать набор чистых линий у таких строгих перекрестников как клевер луговой, люцерны и других видов основных кормовых культур практически невозможно. Но можно создавать выровненные по фенотипу микропопуляции как компоненты синтетических сортов. В этом случае у селекционера есть возможность в процессе первичного семеноводства не только контролировать сортовую идентичность, но и регулировать его структуру, добавляя или изымая часть микропопуляций в соответствии с прогнозом изменения условий внешней среды.

Таким образом, стратегия селекционного процесса в связи с резким изменением климатических условий в сторону потепления должна предусматривать: долгосрочный прогноз тренда агроклиматических условий в зоне предполагаемого возделывания сорта; разработку физиолого-генетических моделей идеотипов сортов кормовых культур, соответствующих тренду агроклиматических условий; создание специализированных селекционно-генетических коллекций исходного материала, удовлетворяющим параметрам перспективных сортов; разработку и использование в практической селекции перспективных схем и методов отбора, включая гетерозисную и маркер-вспомогательную селекцию.

Литература

1. *Образцов А. С.* Потенциальная продуктивность культурных растений. ФГНУ «Росинформагротех». М., 502 с.
2. *Жученко А. А.* Адаптивное растениеводство (эколого-генетические основы) теория и практика. Т. 1. М., «Издательство Агрорус». 2008. 814 с.
3. *Болина Б., Десса Б. Р., Ягера Дж., Уоррика Р.* Парниковый эффект, изменение климата и экосистемы. Л.: Гидрометеиздат, 1989. 557 с.
4. Антропогенные изменения климата. Под ред. М. И. Будыко, Ю. А. Израэля. Л.: Гидрометеиздат, 1987.
5. *Manabe, S., and Stouffer, R. J.* Sensitivity of a global climate model to an increase of CO₂ concentration in the atmosphere. J. Geophys. Res. 1980. V. 85. P. 5529–5554.
6. *Washington W. M., Meehl G. A.* Seasonal cycle experiment on the climate sensitivity due to a doubling of CO₂ with an atmospheric general circulation model coupled to a simple mixed layer ocean model. J. Geophys. Res. 1980. V. 89. P. 9475–9503.
7. *Hansen J., Lacis A., Ring D., etc.* Climate sensitivity: Analysis of feedback mechanisms. American Geophysical Union, Washington, D. C., 1984. 368 p.

8. Борович С. Принципы и методы селекции растений. — М.: «Колос», 1984, 344 с.

Резюме

В статье обсуждаются особенности селекционного процесса кормовых культур в связи с глобальным потеплением климата. Важнейшая роль для сглаживания отрицательных эффектов повышения температуры отводится специфическим коллекциям исходного селекционного материала, формированию идеатипов перспективных сортов, их структуре и методам создания.

У статті обговорюються особливості селекційного процесу кормових культур у зв'язку з глобальним потеплінням клімату. Найважливіша роль для згладжування негативних ефектів підвищення температури відводиться специфічним колекціям вихідного селекційного матеріалу, формуванню ідеатипів перспективних сортів, їх структурам та методам створення.

The article presents a strategy for the breeding process in a rapidly changing environment, which is based on: creation of specialized breeding and genetic collections of source material that satisfies the parameters of the promising varieties; the development and use in practical breeding schemes and promising methods of election, including heterosis and marker-assisted selection.

КОМАХИН Р. А., МИЛЮКОВА Н. А., КОМАХИНА В. В., КРИНИЦЫНА А. А., ЛЕВИНА Т. А., ЖУЧЕНКО А. А.*

ГНУ ВНИИ Сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН,

Россия, 127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д.42, e-mail: recombination@iab.ac.ru

**Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН,*

Россия, 119991, г. Москва, ул. Губкина, д. 3, ГСП 1

НАСЛЕДОВАНИЕ ГЕНОВ МЕЙОЗ-СПЕЦИФИЧНЫХ ЭНДОНУКЛЕАЗ *SPO11* *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* И *SPO11-1* *ARABIDOPSIS THALIANA* В ПОТОМСТВЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА

Кроссинговер — молекулярный механизм, который в мейозе необходим для правильной сегрегации гомологичных хромосом и обмена участками ДНК между ними. Принято считать, что мейотический кроссинговер инициируется эндонуклеазами Spo11, которые в профазе I генерируют двухцепочечные разрывы ДНК [1]. Механизмы, отвечающие за распределение и частоты возникновения в мейозе двухцепочечных разрывов ДНК консервативны у всех эукариот, поскольку мейотическая рекомбинация предпочтительно происходит в областях хромосом, получивших название «горячих» точек рекомбинации [1]. Эндонуклеаза Spo11 представляет собой субъединицу А топоизомеразы II и функционирует как димер [2]. Высказывалось предположение о том, что белки Spo11 сами определяют участки хромосом, в которые вносят двухцепочечные разрывы ДНК [3]. Установлено, что растительные Spo11 могут генерировать двухцепочечные разрывы

вы ДНК в клетках насекомых, однако как этот факт влияет на кроссинговер не показано [4]. Для того, чтобы экспериментально проверить воздействие гетерологичных белков Spo11 на кроссинговер в мейозе растений, нами были получены трансгенные растения томата, экспрессирующие гены *SPO11 S. cerevisiae* (*scSPO11*) и *SPO11-1 A. thaliana* (*atSPO11-1*), которые использовались для проведения гибридологических исследований с применением маркерных линий томата.

Материалы и методы

Молекулярно-биологический анализ растений выполнен с использованием полимеразной цепной реакции и разработанных ранее праймеров к последовательности генов *scSPO11* или *atSPO11-1* [5]. В качестве опылителей использовали маркерные растения культурного томата мо938, содержащие во второй хромосоме рецессивные маркерные гены *wv/wv*, *dd* и *awa/w*.

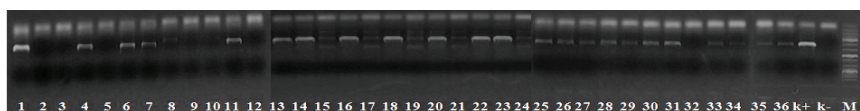
Результаты и обсуждение

Первичные трансформанты томата сорта Маргلوب, экспрессирующие гены *scSPO11* или *atSPO11-1* под контролем сильного конститутивного промотора 35S CaMV, соответственно обозначенные 35S-*scSPO11* и 35S-*atSPO11-1* получены нами ранее [5]. Трансгенные растения, используемые для изучения мейотической рекомбинации, должны не только экспрессировать целевые гены, но и не отличаться по фертильности пыльцы от исходных растений. Установлено, что у некоторых трансформантов фертильность пыльцы была ниже, чем в контроле (нетрансгенные растения сорта Маргلوب). В тоже время, часть растений 35S-*scSPO11* или 35S-*atSPO11-1*, не отличается по этому показателю от контроля. Это свидетельствует, что различия в фертильности пыльцы между трансформантами не зависели от экспрессии целевых генов *scSPO11* или *atSPO11-1*, а, вероятно, являлись следствием Т-ДНК-инсерционного мутагенеза или соматической изменчивости.

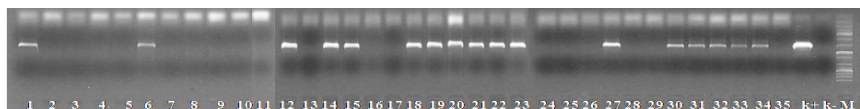
Отобранные трансформанты опылялись пыльцой маркерной линии томата Мо938, в результате чего были получены гибриды F_1 с восемью растений из группы 35S-*scSPO11* и шести 35S-*atSPO11-1*. В потомстве трех независимых трансформантов группы 35S-*scSPO11* и 35S-*atSPO11-1* молекулярно-биологический анализ ДНК позволил отобрать гибриды F_1 , содержащие целевые гены, соответственно обозначенные F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1* (рис. 1).

Экспрессия целевых генов методом ОТ-ПЦР определялась у 2–4 трансгенных гибридов F_1 -*scSPO11* или F_1 -*atSPO11-1* (рис. 2).

Как следует из рисунка 2 у всех изученных трансгенных растений F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1* обнаружена мПНК соответствующих целевых генов. Также для дальнейших исследований были отобраны нетрансгенные аналоги растений F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1*, которые предполагалось использовать в качестве контроля (рис. 1).

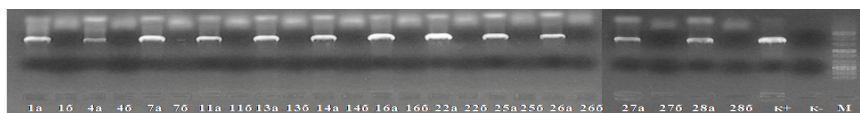


А

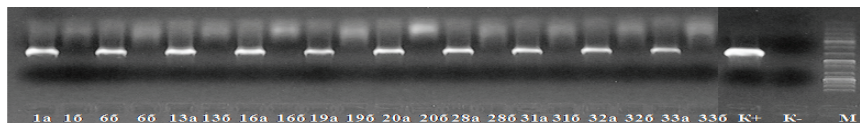


Б

Рис. 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР, полученных с использованием ДНК гибридов томата F_1 -scSPO11 (А) и F_1 -atSPO11-1 (Б) и праймеров к последовательностям целевых генов. Здесь и ниже k+ — положительный контроль. М — маркер размера фрагментов ДНК. k- — отрицательный контроль (вода)



А



Б

Рис. 2. Электрофореграмма продуктов амплификации кДНК (а) или рДНК (б) гибридов томата F_1 -scSPO11 (А) и F_1 -atSPO11-1 (Б) с использованием праймеров к последовательностям целевых генов

Для сравнительного анализа необходимо использовать трансгенные гибриды F_1 -scSPO11 и F_1 -atSPO11-1, содержащие одну Т-ДНК в геноме, чтобы минимизировать влияние ДНК-инсерционного мутагенеза на частоту мейотической рекомбинации. Для этого мы оценили характер расщепления среди гибридов F_1 -scSPO11 и F_1 -atSPO11-1 на трансгенные и нетрансгенные растения (табл. 1).

Среди потомства растений T_0 № 6 (*scSPO11*), 11 и 24 отмечено расщепление по наличию и отсутствию целевого гена 1:1, что предполагает нахождение одной инсерции Т-ДНК в геноме этих первичных трансформантов и их гибридов. В потомстве растения № 16 и 19 существенно преобладали растения с целевым геном, а в потомстве трансформанта № 6 (*atSPO11-1*), наоборот, растения без целевого гена. Отклонения от ожидаемого расщепления являются следствием либо небольшой выборки гибридов F_1 , либо связаны с инсерцией дополнительных копий т-ДНК в геном первичных

трансформантов. Таким образом, гены *scSPO11* или *atSPO11-1* наследуются по материнской линии и экспрессируются в клетках гибридов F_1 . Экспрессия генов *scSPO11* или *atSPO11-1* не оказывает влияния на фертильность пыльцы гибридов, поскольку у всех растений, как трансгенных, так и нетрансгенных она составляла не менее 90–95 %.

Необходимо было установить наследования *scSPO11* или *atSPO11-1* по отцовской линии. Нельзя было исключить того, что экспрессия целевых генов, находящихся под контролем сильного и конститутивного промотора 35S РНК CaMV, может оказывать селективное действие на пыльцу и, таким образом, приводить к отклонениям в наследовании как *scSPO11* или *atSPO11-1*, так и сцепленных с ними генов. Кроме того, необходимо было отобрать гибриды F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1* с одной инсерцией Т-ДНК в геноме. Ранее небольшая выборка растений не позволила достоверно оценить число копий Т-ДНК у всех гибридов F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1*. Поэтому с помощью ПЦР и праймеров к последовательности целевых генов были проанализированы некоторые растения F_2 , полученные в результате самоопыления гибридов F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1* (табл. 2).

Как следует из таблицы 2 гены *scSPO11* или *atSPO11-1* наследуются по отцовской линии. Расщепление среди гибридов F_2 по наличию и отсутствию целевых генов соответствует 3:1, что свидетельствует об одной инсерции Т-ДНК в геноме всех изученных на данный момент растений F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1* и предполагает отсутствие селективного влияния экспрессии генов *scSPO11* или *atSPO11-1* на соотношение фенотипических классов в пыльце.

Положение трансгенов в геноме растений томата может приводить к локальному изменению частоты мейотической рекомбинации между маркерными генами той хромосомы, в которую произошла инсерция Т-ДНК [6]. Для того чтобы избежать этого влияния, было изучено наследование генов *scSPO11* или *atSPO11-1* относительно маркерных генов второй хромосомы томата, которые предполагалось использовать для оценки *rf* (табл. 2). Данные таблицы 2 свидетельствуют, что во всех расщепляющихся популяциях гибридов F_2 гены *scSPO11* или *atSPO11-1* наследуются независимо от маркеров второй хромосомы томата, поскольку расщепление между ними соответствует 9:3:3:1, что и ожидается при наследовании двух генов, локализованных в разных группах сцепления. Следовательно, у всех изученных трансгенных гибридов томата F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1* целевые гены локализованы вне второй хромосомы, которую предполагается использовать для анализа *rf*.

Выводы

Таким образом, гены *scSPO11* или *atSPO11-1* экспрессируются в клетках гибридов томата и не оказывают негативного влияния на формирование пыльцы, наследуются по материнской и отцовской линии. Расщепление по наличию и отсутствию целевых генов свидетельствует об одной инсер-

Таблица 1

Анализ расщепления по наличию и отсутствию целевых генов среди гибридов томата F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1*

Растение T_0	Ц. г.	Гибриды F_1 , шт.		Расщепление		χ^2
		с ц. г.	без ц. г.	фактическое	ожидаемое	
6	<i>scSPO11</i>	5	7	1:1,4	1:1	0,34
11		7	5	1,4:1		0,34
16		11	1	11:1		8,33
6	<i>atSPO11-1</i>	2	9	1:4,5		-
19		9	3	3:1		3
24		6	6	1:1		0

Ц. г. — здесь и далее, целевой ген. Для вероятности ошибки $p \leq 0,05$ и $df = 1$ критическое значение $\chi^2 = 3,84$.

Таблица 2

Наследование в F_2 целевых *scSPO11* или *atSPO11-1* и маркерных генов второй хромосомы томата

Гибрид F_1	Целевой ген	Растений F_2 , шт.*				Ожидаемое расщепление между генами			
		<i>X-S-</i>	<i>X-ss</i>	<i>xxS-</i>	<i>xxss</i>	ц. г.	χ^2	ц. г. и маркерными	χ^2
6/7	<i>scSPO11</i>	41	10	17	4	3: 1	1.19	9: 3: 3: 1	1.89
6/11		40	17	9	6		1.85		2.75
11/1		38	18	13	3		0.04		2.17
11/4		45	14	10	3		0.08		1.93
6/1	<i>atSPO11-1</i>	38	13	14	7		0.29		1.58
6/6		45	14	10	3		0.08		2.25
19/4		39	11	18	4		0.34		2.08
19/7		38	12	18	4		0.29		1.88
19/8		29	8	9	6		0.11		2.70
24/4		39	8	11	4		1.05		1.67
24/7		41	9	13	5		0.71		1.43
24/9		40	13	14	4		0.04		0.09

* — здесь «X» или «xx» маркерный ген второй хромосомы томата (*wv*, *aw* или *d*) в доминантном или рецессивном состоянии; «S» — присутствует последовательность целевого гена, «s» — отсутствует последовательность целевого гена. Для вероятности ошибки $p \leq 0,05$ и $df = 1$ критическое значение $\chi^2 = 3,84$, а для $df = 3$ $\chi^2 = 7,81$.

ции Т-ДНК, локализованной вне второй хромосомы томата, у всех изученных гибридов F_1 -*scSPO11* и F_1 -*atSPO11-1*.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ № 11-04-00873-а.

Литература

1. Hartung F., Puchta H. Molecular characterisation of two paralogous *SPO11* homologues in *Arabidopsis thaliana* // *Nucleic Acids Res.* 2000. 28 (7). P. 1548–1554.

2. Hartung F., Puchta H. Molecular characterization of homologues of both subunits A (SPO11) and B of the archaeobacterial topoisomerase 6 in plants // *Gene*. 2001. V.271. P.81–86.

3. Murakami H., Nicolas A. Locally, meiotic double-strand breaks targeted by Gal4BD-Spo11 occur at discrete sites with a sequence preference // *Mol Cell Biol*. 2009. V. 29 (13). P. 3500–16.

4. Shingu Y., Tokai T., Agawa Y., Toyota K., Ahamed S., Kawagishi-Kobayashi M., Komatsu A., Mikawa T., Yamamoto M. T., Wakasa K., Shibata T., Kusano K. The double-stranded break-forming activity of plant SPO11s and a novel rice SPO11 revealed by a *Drosophila* bioassay // *BMC Mol Biol*. 2012. 13:1.

5. Комахин Р. А., Комахина В. В., Милюкова Н. А., Криницына А. А., Кунаш Е. А., Жученко А. А. Создание трансгенных растений томата, экспрессирующих гены мейоз-специфичных эндонуклеаз *SPO11 Saccharomyces cerevisiae* или *SPO11-1 Arabidopsis thaliana* // В сборнике работ VII Международной научной конференции «Факторы экспериментальной эволюции организмов». 2011. Т. 11. с. 306–310.

6. Юнусов З. Р., Соловьев А. А., Михайленко С. Н., Комахин Р. А., Жученко А. А. Влияние трансгенов на мейотическую рекомбинацию у высших эукариот, на примере растений томата // *Сельскохозяйственная биология*. 2009. № 3. С. 52–59.

Резюме

Получены трансгенные гибриды томата F_1 -scSPO11 и F_1 -atSPO11-1, экспрессирующие гены *scSPO11* или *atSPO11-1*. Установлено, что гены *scSPO11* или *atSPO11-1* наследуются по материнской и отцовской линии. Для исследований отобраны гибриды с одной inserцией T-ДНК, не сцепленной с маркерными генами.

Transgenic tomato hybrids F_1 -scSPO11 и F_1 -atSPO11-1 with expression of *scSPO11* or *atSPO11-1* gene have been obtained. It was established that *scSPO11* and *atSPO11-1* genes were inherited through the maternal and paternal lineages. Hybrids with one insertion T-DNA which was not linked with marker genes have been selected for further investigation.

КОРНЄЄВА М. О., НЕНЬКА О. В., НЕНЬКА М. М.

Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України
03141, м.Київ, вул. Клінічна, 25, e-mail: mira31@ukr.net, mak7sasha@mail.ru

ГЕНЕТИЧНИЙ КОНТРОЛЬ СХОЖОСТІ НАСІННЯ ГІБРИДІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ, СТВОРЕНИХ ЗА УЧАСТЮ ЗАПИЛЮВАЧІВ РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ

Вирощування цукрових буряків за біоадаптивною технологією передбачає використання гібридів цукрових буряків не лише з високими продуктивними властивостями, а і з високими посівними якостями [1]. При формуванні гібридів на основі цитоплазматичної чоловічої стерильності запилювачами слугують багатонасінні лінії. У процесі створення ці лінії піддаються селекційному покращанню і доборам не лише за комбінаційною здатністю, врожайністю і цукристістю, а і за такою складовою посівних якостей як схожість насіння [2]. Генетичний контроль цієї ознаки можна вивчити за використання контрольованої гібридизації, тобто як в системі

топкросних, так і діалельних схрещувань. Останній метод є більш інформативним, оскільки дозволяє визначити не лише ефекти загальної (ЗКЗ) та специфічної (СКЗ) комбінаційної здатності, але і розкласти генетичну варіансу на адитивний, домінантний та епістатичний компоненти, визначити ступінь та напрям домінування, розподіл домінантних і рецесивних алелів у лініях, а також кількість генів, або груп генів, що контролюють досліджувану ознаку [3]. Це дозволяє вивчити не лише генетичну детермінацію схожості насіння як елемента посівних якостей, але і вибрати комбінації для схрещування під конкретні програми селекції.

Матеріали і методика

Дослідження проводили в Інституті коренеплідних культур НААН України (нині Уманська дослідно-селекційна станція біоенергетичних культур і цукрових буряків) у 2010–2011 рр. До схрещування за діалельною схемою було залучено 6 ліній багатонасінних запилювачів, що походили з різних генплазм: БЗ 1, БЗ 2 (верхняцька), БЗ 3, БЗ 4, БЗ 5 (уманська) та БЗ 6 (рамонська) [4]. Вихідний матеріал був гомозиготним, що відповідає вимогам моделі Хеймана [3]. Посівні якості насіння визначали згідно з ДСТУ 2292–93 [5].

Результати та обговорення

Порівняння лабораторної схожості ліній і міжлінійних гібридів показало, що у даному наборі гібридизація підвищила схожість насіння (крім лінії БЗ6), її значення у гібридів коливалися від 95 до 98 %, у ліній — від 94 до 96 % (рис. 1).

Як показали результати дисперсійного аналізу, різниця між гібридами за ознакою схожості насіння була достовірною: $F_{\text{факт}} = 4,62 > F_{\text{теор}} = 1,65$. Аналіз генотипової варіанси вказував на те, що вплив ЗКЗ був значущим: $F_{\text{факт}} = 3,46 > F_{\text{теор}} = 2,37$ на 5-% рівні. Істотний вплив на досліджувану

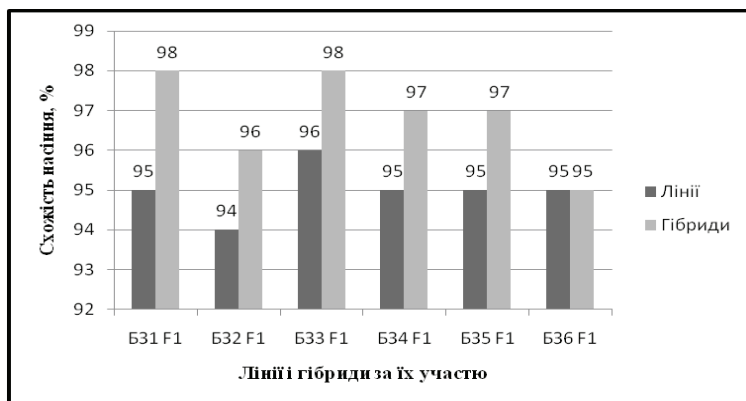


Рис. 1. Порівняння лабораторної схожості ліній і міжлінійних гібридів

ознаку виявили СКЗ батьківських форм і реципрокні ефекти — відповідно $F_{\text{факт}} = 4,54 > F_{\text{теор}} = 1,84$ та $F_{\text{факт}} = 5,09 > F_{\text{теор}} = 1,84$.

Аналіз ефектів комбінаційної здатності показав, що лише одна лінія БЗ 3 характеризувалася істотно високим значенням ЗКЗ (+0,61*), а лінія БЗ 2 найгірше комбінувалася з іншими лініями з набору. Схожість насіння між-лінійних гібридів, створених на основі лінії БЗ 3, була високою і коливалася у межах 96,3...99,8% (табл. 1).

Деякі пари запилювачів добре комбінувалися між собою, адже ефекти СКЗ у них були позитивними і достовірними. Це комбінації БЗ 1/БЗ 5 (+1,01*), БЗ 2/БЗ 3 (+1,41*), БЗ 2/БЗ 6 (+1,18*), БЗ 3/БЗ 4 (+1,70*), БЗ 4/БЗ 5 (+1,89*), що свідчить про неадитивну дію генів. Комбінації від схрещування пар БЗ 2/БЗ 4 та БЗ 3/БЗ 5 характеризувалися істотними і від'ємними значеннями взаємодії генів за ознакою схожості насіння.

Діалельний аналіз дозволив встановити також і вплив цитоплазми на значення досліджуваної ознаки. Позитивні реципрокні ефекти були у комбінацій БЗ 3/БЗ 5, БЗ 3/БЗ 6 та БЗ 4/БЗ 6 — вони були високими і однаковими (+1,88). Проте частіше спостерігалися від'ємні. Це — комбінації з однаковим негативним впливом цитоплазми БЗ 1/БЗ 2, БЗ 1/БЗ 3 (-1,50), БЗ 2/БЗ 4, БЗ 5 (-1,38) та комбінація БЗ 4/БЗ 6 (-1,03).

За допомогою діалельного аналізу побудовано графік регресії W_i/V_i , який дозволяє визначити відносну частину домінантних і рецесивних генів, які контролюють ознаку схожості насіння у батьківських ліній (рис. 2). Оскільки лінія регресії пересікла від'ємну частину вісі W_i , можна вважа-

Таблиця 1

Комбінаційна здатність ліній і реципрокні ефекти гібридних комбінацій запилювачів, одержаних за діалельною схемою, 2010–2011 рр.

Лінії	БЗ1	БЗ2	БЗ3	БЗ4	БЗ5	БЗ6
БЗ 1	#	0,24	0,58	-0,59	1,01*	0,72
		-1,50	-1,50	-0,38	-2,38	0,25
БЗ 2	0,24	#	1,41*	-1,26*	-0,08	1,18*
	-1,50		-0,63	-1,38	-1,38	0,38
БЗ 3	0,58	1,41*	#	1,70*	-1,94*	-0,11
	-1,50	-0,63		0,25	1,88	1,88
БЗ 4	-0,59	-1,26*	1,70*	#	1,89*	-1,03
	-0,38	-1,38	0,25		0,75	1,88
БЗ 5	1,01*	-0,08	-1,94*	1,89*	#	0,08
	-2,38	-1,38	1,88	0,75		1,13
БЗ 6	0,72	1,18*	-0,11	-1,03	0,08	#
	0,25	0,38	1,88	1,88	1,13	
Ефекти ЗКЗ	0,40	-0,56*	0,61*	-0,10	0,05	-0,41
Константа СКЗ	-0,11	0,44	1,23	1,32	1,11	0,03

$НР_{05}$ для попарного порівняння ЗКЗ — 0,22

$НР_{05}$ для порівняння із середньою СКЗ — 0,51

Примітка. У чисельнику — ефекти специфічної комбінаційної здатності, у знаменнику — реципрокні ефекти.

ти, що генетична детермінація ознаки схожість насіння була обумовлена наддомінуванням. Показник ступеню домінування $H_1/D = 57,964$ показав, що у спадкуванні схожості насіння переважало повне домінування. Середня ступінь домінування, що оцінювалася як $\sqrt{H_1/D} = 7,61$, був більшим від одиниці, також була повною. У спадкуванні цієї ознаки ключову роль грали ефекти домінування генів.

Оцінки H_1 і H_2 виявилися не рівними, що свідчить про нерівномірний розподіл домінантних і рецесивних алелів між батьківськими лініями. Це також підтверджується і відхиленням $H_2/4 H_1$ від 0,25, яке становило за даними 0,23, тобто такий розподіл був асиметричним.

Судячи по розташуванню досліджуваних нами ліній-запилювачів відносно лінії регресії, можна констатувати, що у них переважали домінантні алелі. Лінія з найбільшою кількістю домінантних генів має найменшу варіансу V_i та коваріансу W_i і знаходиться в нижньому лівому куті. Це — лінія верхняцького походження БЗ 1 та лінія БЗ 6 рамонської селекції, які мають лише домінантні гени. Лінії БЗ 2 (верхняцька генплазма) та БЗ 3, БЗ 5 (уманська генплазма) містять три чверті домінантних генів. Лінія БЗ 4 уманської генплазми характеризується найбільшою кількістю рецесивних генів, що становило 50%, оскільки вона мала найбільшу варіансу V_i та коваріансу W_i і знаходилася у верхньому правому куті.

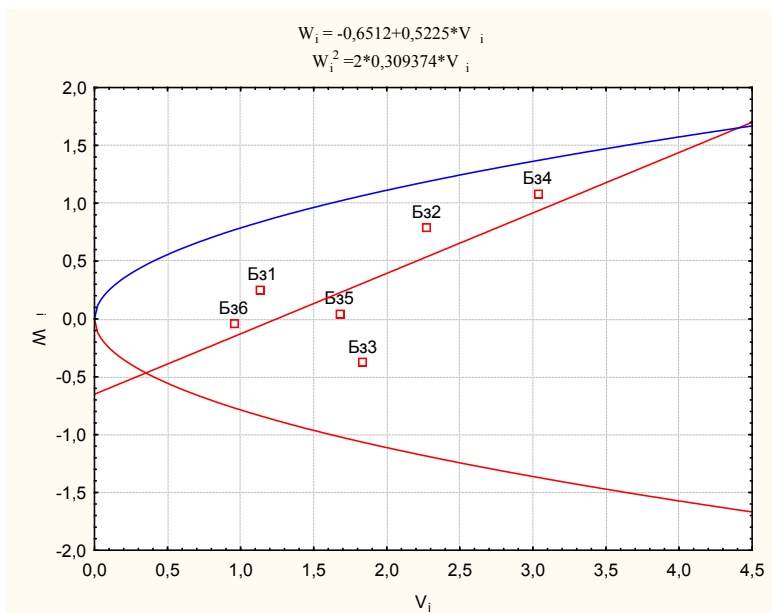


Рис. 2. Графік регресії W_i/V_i для ознаки схожості насіння гібридів

За даними компонентів генетичної дисперсії встановлено складову мінливості F , яка відображає напрям домінування, яка, при успадкуванні по типу домінування, встановлюється як різниця між середньою батьківських ліній і загальною середньою. Для ліній БЗ 1 (верхняцького), БЗ 3 (уманського) та БЗ 6 (рамонського походження) домінування було направлено у бік підвищення значення ознаки, у інших — у бік його зниження.

Застосування генетичного аналізу на основі діалельних схрещувань дозволило через співвідношення h^2/N_1 визначити кількість генів, або групу генів, які контролюють досліджувану ознаку. За нашими даними, схожість насіння контролюється 20 генами (або олігоценами). Це підтверджується і складністю зміни рівня ознаки практичною селекцією в процесі опрацювання селекційних матеріалів.

Висновок

Таким чином, на основі аналізу діалельних гібридів можна констатувати, що схожість насіння є полігенна ознака, генетичний контроль якої здійснюється адитивно-домінантною системою — не менше, ніж 20 генами (олігоценами). Детермінація цієї ознаки у гібридів обумовлена наддомінуванням. Лінії БЗ 1 та БЗ 6 мають домінантні алелі у всіх локусах, що контролюють цю ознаку, і можуть бути використані як в практичній селекції, так і генетичних дослідженнях. Визначено ефекти комбінаційної здатності запилювачів цукрових буряків для підбору батьківських пар, встановлено реципрокні ефекти у гібридів.

Література

1. *Біоадаптивну* технологію вирощування цукрових буряків — на поля. Рекомендації з біоадаптивної технології весняного обробітку ґрунту, сівби та догляду за посівами цукрових буряків в умовах 2011 р. Авт.колектив — Роїк М.В., Іващенко О.О., Демидов О.А. та ін.) Цукрові буряки, № 3 (81), 2011. — С. 8–11.
2. Корнєєва М.О. Селекційне покращення схожості насіння експериментальних ЧС гібридів буряка цукрового/М.О. Корнєєва, П.І. Вакуленко // Збірник наукових праць Уманського державного аграрного університету. — Умань, 2008. — № 69 — С. 62–67.
3. Гопцій Т.І. Генетико-статистичні методи в селекції / Т.І. Гопцій, М.В. Проскурін — Харків: ХНАУ. — 2003. — 103 с.
4. *Насіння цукрових буряків*. Методи визначення схожості, одноростковості та доброякісності: ДСТУ 2292–93. — [Чинний від 1996–01–01]. К.: Держспоживстандарт України, 1996. — 12 с. (Державний стандарт України).

Резюме

На основі аналізу діалельних гібридів встановлено генетичний контроль признака всхожесть семян. Определены эффекты комбинационной способности опылителей сахарной свеклы для подбора родительских пар, установлены реципрокные эффекты у гибридов.

На основі аналізу діалельних гібридів встановлено генетичний контроль ознаки схожості насіння. Визначено ефекти комбінаційної здатності запилювачів цукрових буряків для підбору батьківських пар, встановлено реципрокні ефекти у гібридів.

Genetic control of seed germination factors was established basing on the diallel hybrids. The effect of combination ability of sugar beet pollinators for selecting parent pairs was defined and reciprocal effects were found out.

**КОЧМАРСЬКИЙ В. С., КИРИЛЕНКО В. В., КОЛОМІЄЦЬ Л. А.,
ГУМЕНЮК О. В., ДЕРГАЧОВ О. Л., ХАРЧЕНКО А. В.**

*Миронівський інститут пшениці імені В. М. Ремесла НААН України,
Україна, 08853, с. Центральне, Миронівського району, Київської області,
e-mail: mwheats@ukr.net; mironovka@mail.ru*

МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ КОМПЛЕКСНОЇ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ПОСУХО- ТА ЖАРОСТІЙКОСТІ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ

У головних селекційних установах стало активним впровадження у практику досліджень фізіологічних особливостей адаптації. Теоретичні розробки фізіологів разом із селекціонерами, основна мета яких полягала у необхідності оцінки селекційного матеріалу, стали невід'ємною частиною селекційного процесу при створенні нових сортів пшениці.

Незважаючи на те, що сучасна фізіологія рослин має цілий ряд методичних розробок для діагностики стійкості рослин до ґрунтової посухи й високих температур, значного зрушення у розв'язанні проблеми не спостерігається. Широкого впровадження цих методик у селекційну практику не відбулось. На думку вчених це спричинено недостатньою розробленістю методології та використання їх щодо зон вирощування пшениці озимої. Недоцільно говорити про стійкість генотипу взагалі, а необхідно пов'язувати її з конкретним етапом органогенезу. Якщо проводити оцінку на рівні проростка, то висновок не означатиме, що цей генотип буде стійким у інших зонах України, де посуха та температура починають негативно діяти на різних етапах розвитку рослин [1–3].

Досить різкі коливання температур у Лісостепу України — це об'єктивна реальність, яку неможливо відмінити, але необхідно враховувати, особливо при створенні нових сортів озимої пшениці [4–6]. А тому, на нашу думку, слід детально обґрунтувати особливості адаптації озимої пшениці до стресу в умовах МПП. Дослідження посухостійкості у польових умовах потребує багаторічних спостережень, тому що вона проявляється не кожного року і суттєво різниться за періодом появи і ступенем напруженості термofакторів [7, 8]. Сучасні методи оцінки посухостійкості за об'єктивністю та швидкістю визначення її не відповідають потребам селекції. Крім того, всі вони не передбачають подальшого дорощування рослинного матеріалу, тому отримання насіння з нього стає неможливим [9]. Особливої уваги заслуговує методика ранньої діагностики посухо- і жаростійкості рослин, за якою об'єктом дослідження є насіння.

Мета досліджень — показати ефективність використання лабораторних комплексних методів ранньої діагностики посухо- і жаростійкості для характеристики колекційних зразків та ліній пшениці озимої.

Матеріал і методи

Колекційні зразки, перспективні лінії пшениці озимої м'якої досліджували у селекційній сівозміні нашої установи у 2007–2010 рр. Ранню діагностику *жаростійкості* проводили непрямим методом, запропонованим В.Г. Шахбазовим [10]. Для визначення *посухостійкості* у дослідях застосовували методику Т.В. Олейнікової і Н.Н. Кожушко [11]. Згідно з методикою Н.Г. Ведрова [12], насіння дослідних зразків пророщували у ростильнях на фільтрувальному папері за температури +21 °С. На 3-ю добу по відношенню до кількості висіяного насіння визначали відсоток насінин, що мали дві пари і більше корінців.

Нами внесені удосконалення щодо застосування зазначених методик, зокрема, насіння сортів та ліній озимої пшениці ми висівали у ростильнях, а не у чашках Петрі, збільшуючи вибірку зразків. Це дало можливість більш об'єктивно оцінити досліджуваний матеріал на жаро- та посухостійкість.

Вегетаційний дослід у водній культурі, модифікований співробітниками лабораторії фізіології і біохімії рослин МІП, також деякою мірою характеризує посухостійкість генотипу. На вегетаційний ящик, заповнений водою, наклали пластмасову решітку з продовгуватими отворами, а зверху — фільтрувальний папір з визначеним місцем для кожної насінини. Розміщали по 25 насінин кожного сорту в чотириразовій повторності, накривали пергаментним папером і залишали до проростання. У фазі трьох листків (21-й день) вимірювали довжину первинної кореневої системи. Можливість розподілу на групи стійкості розраховували за П.Ф. Рокицьким [13].

Результати та обговорення

Жаростійкість. На основі проведених досліджень виявлено, що після дії на насіння підвищеної температури матеріал за кількістю пророслих насінин можна поділити на три групи. Найбільшу схожість насіння озимої пшениці після дії температурного стресу (рис. 1) було відмічено у колекційних зразків з Німеччини (Akratos, Dromos), України (Антонівка, Благодарка одеська, Бунчук, Вінничанка, Планета, Отаман, Розкішна, Степнянка, Тітона, Турунчук, Крижинка, Монотип, Істина одеська), Угорщини (MV Kemence, MV 10–02, MV Kolo, MV 417–03).

Згідно з середніми даними за роки вивчення математично доведено можливість поділу колекційних зразків та ліній за жаростійкістю: високостійкі (пророслого насіння 81–98%), середньостійкі (65–75%), слабостійкі (45,0–60,2%). Середня врожайність перспективних ліній першої групи становила 70,8 ц/га, другої — 66,1 ц/га, третьої — 63,6 ц/га (табл. 1). Зв'язок між лабораторною схожістю насіння після дії підвищеної температури і середньою продуктивністю ліній виражався коефіцієнтом кореляції $r = 0,79 \pm 0,11^{**}$.

Посухостійкість. Здатність рослин на перших етапах розвитку використовувати вологу в умовах посухи є важливою біологічною і госпо-

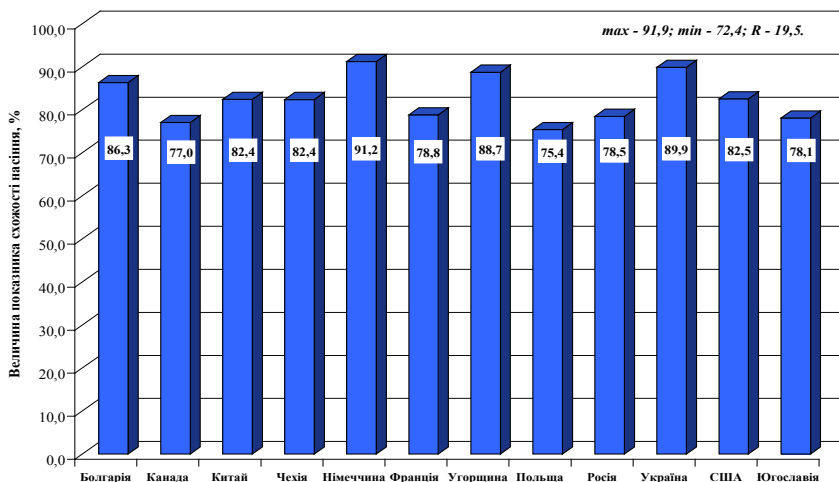


Рис. 1. Схожість насіння колекційних зразків пшениці м'якої озимої після дії температурного стресу (МПП, 2007–2010 рр.)

Таблиця 1

Схожість насіння перспективних ліній пшениці озимої після дії температурного стресу та їхня врожайність (середнє за 2007–2010 рр.)

Селекційний номер лінії	Схожість насіння, %	Ліміти схожості, %	Середня за групою схожість, %	Урожайність, ц/га	Середня урожайність, ц/га	t _{факт.} (за % схожості)	t _{табл. 05} (за % схожості)
35232, 36609, 36643,	97.1, 92.8, 92.5,	81–98	89,4	68.7, 69.0, 70.7,	70,8	(I–II) 10,7 (I–III) 15,3 (II–III) 5,8	2,06 2,07 2,13
32450, 36729, 34962,	90.1, 93.3, 85.1,			69.6, 68.8, 68.3,			
35412, 35414, 35510,	83.5, 81.5, 937,			65.5, 75.3, 74.0,			
35539, 31228, 36116,	98.0, 88.9, 91.6,			73.7, 68.5, 68.6,			
36123, 36127, 35354,	86.5, 87.9, 83.5,			70.4, 69.7, 71.8,			
36772, 36773, 36774	85.7, 87.5, 90.7	65–75	70	72.2, 74.0, 76.4	66,1		
36617, 35802, 36641,	65.8, 66.0, 69.4,			66.0, 65.0, 66.2,			
36642, 36651, 36728,	75.0, 74.9, 68.6,			66.3, 67.2, 65.8,			
35610, 36339, 34859,	75.0, 74.8, 65.2,			67.5, 66.3, 65.6,			
35455	65.0			65.0			
36499, 36548, 33003	45.0, 56.2, 52.3,	45–60,2	55,9	63.3, 65.0, 62.7,	63,6		
36610, 36630, 34730,	58.8, 58.5, 60.0,			64.3, 63.0, 62.3,			
35349	60.2			64.8			

дарською ознакою [14]. Проростання насіння у розчині осмотика характеризує його всмоктувальну здатність. Чим більший відсоток проростання насіння у розчині сахарози, тим більш посухостійким можна вважати генотип. Найбільшу схожість насіння пшениці м'якої озимої при пророщуванні у розчині сахарози (рис. 2) було відмічено у колекційних зразків з України (Благодарка одеська, Істина одеська, Степнянка, Вінничанка, Планета, Тітона, Отаман, Турунчук, Крижинка, Бунчук), Німеччини (Akratos, Dromos), Угорщини (MV Kolo, MV 417–03, MV Kemence, MV 10–02) та Болгарії (LG 838, LG 909, Milena, PP 292, PP 415, Галатея). Дослідження посухостійкості перспективних ліній пшениці озимої за проростанням насіння у розчині сахарози, що має високий осмотичний тиск, дали можливість розподілити їх за ступенем стійкості на три групи: високо-, середньо- і слабостійкі (табл. 2). Таким чином, проведені дослідження показують, що схожість на рівні 86–92% пророслого насіння виявляє умовну здатність генотипу користуватися недостатніми запасами вологи, що вказує на його посухостійкість.

Здатність рослин вистояти проти посухи у багатьох випадках визначається швидкістю проникнення корінців у ґрунт на початковій фазі вегетації рослин. Тому, об'єктивним показником потенційної посухостійкості генотипу пшениці можуть бути темпи росту кореневої системи. Найшвидші темпи росту і, відповідно, найбільшу довжину кореневої системи на 21-у добу було відмічено у колекційних зразків пшениці м'якої озимої Тітона, Отаман, Турунчук, Істина одеська, Степнянка, Вінничанка, Планета, Крижинка, Благодарка одеська, Бунчук (Україна), KBP 3106, KBP 3506, KBP 02782, KBP 021112, Kohelia, KBP 3807, Kobra Plus, KBH 1277/03, KBH 1434/03, Mewa (Польща), Buckskin, NE 68435, NE 97669 (США) та генетичного матеріалу із селекцентрів Росії та Югославії.

У дослідях з визначення довжини кореневої системи перспективні лінії можливо розподілити на три групи (табл. 3). До першої групи належать форми з довжиною кореневої системи 21,1–22,6 см, другої — 20,1–20,8 см і третьої — 17,4–19,6 см.

Кожний із вивчених методів ранньої діагностики посухостійкості та жаростійкості характеризує тільки одну сторону цих ознак. Тому логічно передбачити, що достовірність і надійність лабораторних оцінок може бути досягнута тільки за використання декількох методів, заснованих на різних принципах. При цьому, чим ширше будуть представлені сторони можливої реакції генотипу, тим надійнішим буде зв'язок між чутливістю його до умов вирощування і продуктивністю.

Висновки

1. Результати дослідження колекційного матеріалу, перспективних ліній озимої пшениці проявили різну реакцію за ранньою діагностикою жаростійкості, що є важливим для селекційної роботи.

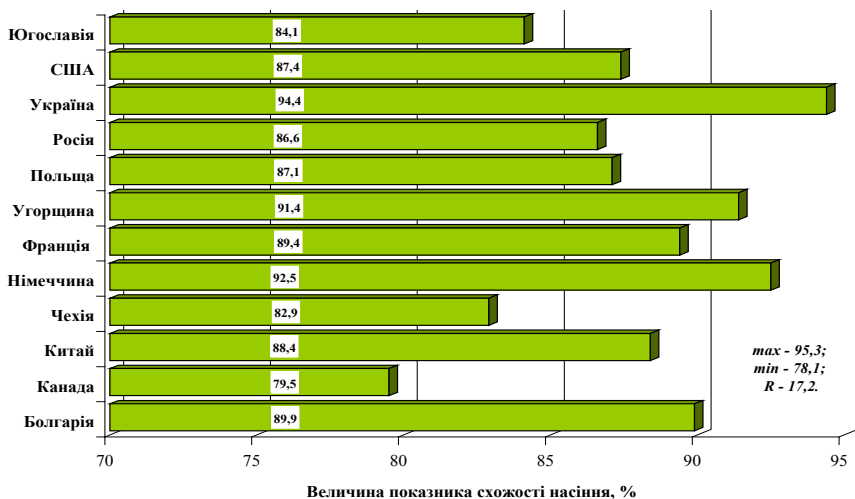


Рис. 2. Схожість насіння колекційних зразків пшениці м'якої озимої при пророщуванні у розчині сахарози (МІП, 2007–2010 рр.)

Таблиця 2

Відсоток пророслого у розчині сахарози насіння перспективних ліній пшениці озимої (середнє за 2007–2010 рр.)

Селекційний номер лінії	Схожість насіння, %	Ліміти схожості, %	Середня за групою схожість, %	t _{факт.}	t _{табл. 05}
35232, 36609, 36643, 32450, 36729, 34962, 35412, 35414, 35510, 35539, 31228, 36116, 36123, 36127, 35354, 36772, 36773, 36774	86,0, 88,2, 87,2, 88,3, 86,7, 86,8, 91,8, 92,0, 91,8, 91,4, 86,3, 86,4, 87,6, 87,0, 88,1, 92,0, 91,8, 92,0	86–92	88,9	(I–II) 18,3 (I–III) 20,4 (II–III) 6,8	2,06 2,07 2,13
36617, 35802, 36641, 36642, 36651, 36728, 35610, 36339, 34859, 36499, 36548, 33003, 36610, 36630, 34730,	72,0, 70,8, 72,0, 73,2, 72,8, 70,9, 76,0, 73,3, 74,2, 63,3, 62,8, 60,0, 68,0, 67,3, 66,4,				
35349	68,0	60–68	65,1		

2. Застосування методів діагностики посухостійкості за відсотком пророслого насіння у розчині сахарози, швидкістю появи другої пари зародкових корінців, а також модифікованого вегетаційного методу визначення довжини кореневої системи дали можливість виділити лінії та високою, середньою та слабкою посухостійкістю.

3. Встановлено кореляційні зв'язки врожайності з лабораторною схожістю після дії підвищеної температури ($r = 0,79 \pm 0,11$), осмотичного тис-

Таблиця 3

Довжина кореневої системи у перспективних ліній пшениці озимої (2007–2010 рр.)

Селекційний номер лінії	Довжина корене- вої системи, см	Ліміти дов- жини коре- невої сис- теми, см	Середня по групі дов- жина кореневої системи, см	t _{факт.}	t _{табл. 05}
35232, 36609, 36643	21,3, 21,4, 22,1,	21,1–22,6	21,8	(I–II) 8,0 (I–III) 11,1 (II–III) 5,8	2,06 2,07 2,13
32450, 36729, 34962,	21,7, 21,1, 22,3,				
35412, 35414, 35510,	21,1, 22,0, 21,1,				
35539, 31228, 36116,	22,0, 22,4, 22,6,				
36123, 36127, 35354,	21,6, 22,4, 22,6,				
36772, 36773, 36774	21,8, 22,3, 21,1	20,0–20,8	20,3		
36617, 35802, 36641,	20,2, 20,6, 20,1,				
36642, 36651, 36728,	20,3, 20,0, 20,2,				
35610, 36339, 34859.	20,8, 20,3, 20,8.				
36499, 36548, 33003,	19,6, 17,4, 18,6,	17,4–19,6	18,7		
36610, 36630, 34730,	19,3, 19,2, 17,6,				
35349	18,9				

ку в розчині сахарози ($r = 0,70 \pm 0,13$), кількістю насінин з двома парами зародкових корінців ($r = 0,73 \pm 0,12$) і довжиною кореневої системи ($r = 0,65 \pm 0,13$).

Література

1. Кожушко Н. Н. Определение засухоустойчивости и жаростойкости сортов зерновых культур по изменению проницаемости протоплазмы для электролитов / Н. Н. Кожушко. — Л.: ВИР, 1982. — 12 с.
2. Колоша О. И. Оценка на засухоустойчивость и зимостойкость / О. И. Колоша, И. Г. Шматько, Е. М. Полтарев // Селекция и семеноводство зерновых культур. — К., 1978. — С. 209–224.
3. Ляшок А. К. Лабораторный способ отбора засухоустойчивых растений / А. К. Ляшок, В. Н. Мусич // Селекция и семеноводство. — 1983. — № 3. — С. 15–17.
4. Мусиенко Н. Н. Методические рекомендации по ранней диагностике жароустойчивости озимой пшеницы / Н. Н. Мусиенко, П. С. Славный, А. А. Оканенко. — К., 1983. — 11 с.
5. Шматько И. Г. Устойчивость растений к водному и температурным стрессам / И. Г. Шматько, И. А. Григорюк, О. Е. Шведова. — К.: Наук. думка, 1989. — 222 с.
6. Методика диагностики устойчивости растений (засухо-, жаро-, соле- и морозоустойчивости) / Г. В. Удовенко, Т. В. Олейникова, Н. Н. Кожушко [и др.]. — Л.: ВИР, 1970. — 74 с.
7. Мусиенко Н. Н. Способ ранней диагностики жароустойчивости озимой пшеницы по фотохимической активности изолированных хлоропластов / Н. Н. Мусиенко, А. А. Оканенко, Н. Ю. Таран // С.-х. биология. — 1986. — № 7. — С. 90–98.
8. Григорюк І. П. Реакція рослин на водний і температурний стреси та способи їх регуляції: Автореф. дис. ... доктора біол. наук / І. П. Григорюк. — К., 1996. — 40 с.
9. Спосіб оцінки посухостійкості рослин озимої пшениці в сучасних погодних умовах // Наук — тех. бюл./Миронівський ін-т пшениці Г. В. Мазільніков, О. П. Ха-

мула, В. А. Фоманюк [та ін.] // Наук.-техн. бюл. Мирон. ін-ту пшен.— К.: Аграрна наука, 2006.— Вип. 5.— С. 133–140.

10. Шахбазов В. Г. Методика для определения жароустойчивости. Комплексная методика ранней диагностики засухо- и жароустойчивости мягкой яровой пшеницы / В. Г. Шахбазов.— Новосибирск, 1981.— 25 с.

11. Олейникова Т. В. Определение засухоустойчивости сортов пшеницы и ячменя по прорастанию семян на растворах сахарозы с различным осмотическим давлением / Т. В. Олейникова, Н. Н. Кожушко // Докл. ВАСХНИЛ.— 1970.— № 8.— С. 8–10.

12. Ведров Н. Г. Корневая система зерновых культур как объект для селекции / Н. Г. Ведров // Сорт и удобрение.— Иркутск, 1974.— С. 139–144.

13. Рокицкий П. Ф. Основы вариационной статистики для биологов / П. Ф. Рокицкий.— Минск, 1961.— 221 с.

14. Ляшок А. К. О механизмах жаро-, засухоустойчивости пшеницы и ячменя / А. К. Ляшок, П. Л. Никулин // Науч.-техн. бюлл. ВСГИ.— Одесса, 1989.— Вип. 1 (71).— С. 124–125.

Резюме

Наведено результати досліджень можливості використання комплексних лабораторних методів ранньої діагностики для характеристики жаро- і посухостійкості генотипів пшениці озимої. Виявлено диференціацію за реакцією генотипу при використанні даних методів, які ґрунтуються на різних принципах, що відображають різні біологічні процеси.

Приведены результаты исследований возможности использования комплексных лабораторных методов ранней диагностики для характеристики жаро- и засухоустойчивости. Вывявлено дифференциацию на реакцию генотипа с использованием этих методов, которые основываются на разных принципах, которые отображают разные биологические процессы.

Results of investigations of the possibility of using complex laboratory methods for early detection of heat resistance and drought tolerance of winter wheat genotypes are given. Differentiation in reaction of the genotypes when using these methods based on different principles displaying different biological processes was found.

КРАВЧЕНКО В. П.

Україна, 69123, м. Запоріжжя, Хортицьке шосе, 12, кв. 92,
e-mail: vasyllkr@dctel.net.ua

РОЗПОДІЛ ОЗНАКИ ТЕРПКІСТЬ — НЕТЕРПКІСТЬ В РІЗНИХ ТИПАХ ПЛОДІВ ХУРМИ СХІДНОЇ ТА УСПАДКУВАННЯ ГІБРИДАМИ З ХУРМОЮ ВІРГІНСЬКОЮ

Забарвлені, знімальної стиглості тверді плоди хурми східної *Diospyros kaki* (L) Thunb. за смаком розподіляються на терпкі та нетерпкі. Нетерпкі плоди хурми є найпривабливішими для споживання у свіжому вигляді, їх можна їсти твердими, як яблуко, без будь-якої обробки. Терпкі плоди хурми втрачають терпкість, коли перестигають, тоді вони стають їстівними. Недо-

ліком є те, що перестиглі плоди дуже м'які і їх непросто транспортувати, тому нетерпкий тип плоду більш придатний для торгівлі.

Кожний тип хурми (терпкий-нетерпкий) має подальший поділ на два підтипи — варіантний і константний — залежно від зв'язку між наявністю насіння та кольором м'якоті. Ще у 1913–1914 рр. Хуме писав про вплив запилення на колір м'якоті плодів варіантного типу [5]. М'якоть плодів хурми варіантного типу стає темною («шоколадною»), коли в ній внаслідок запилення є насіння, а на колір м'якоті плодів хурми константного типу не впливає наявність насіння внаслідок запилення. В садівництві Японії існує класифікація хурми східної, яку запропонував Каджіура у 1946 р. [5], згідно з якою виділяється чотири типи, а саме:

- 1) константний від запилення терпкий (PCA);
- 2) константний від запилення нетерпкий (PCNA);
- 3) варіантний від запилення терпкий (PVA);
- 4) варіантний від запилення нетерпкий (PVNA).

Типи PCA та PCNA не змінюють кольору м'якоті, незважаючи, чи є насіння в плодах, чи його немає. У PCA-типу плоди терпкі, забарвлені, тверді в період знімальної зрілості. У PCNA-типу плоди нетерпкі, забарвлені, тверді в період знімальної стиглості. У варіантних PVA й PVNA — типів забарвлені тверді плоди знімальної зрілості мають потемніння м'якоті («шоколадні»), але у типу PVA — лише навколо насіння, а у плодів PVNA — типу повністю. У безнасінних плодах обох типів PVA й PVNA колір м'якоті не змінений.

За даними Пасенкова А. К. [4], варіантний тип плоду має нетерпкий смак, коли в плоді більше трьох насіннин. Плоди типів PVA та PCA терпкі в стані знімальної зрілості, їх можна їсти лише після зникнення терпкості під час зберігання і природного розм'якшення або внаслідок дії прискорювачів дозрівання.

Сугіура та інші (1979), Сугіура і Томана (1983) [5] виявили, що насіння в плодах типу PVA й PVNA виробляє значну кількість ацетальдегіду та етанолу, причому високу здатність має насіння плодів типу PVNA, середню — типу PVA й низьку — типу PCA. У деяких плодах типу PCNA ці летючі речовини є (сорт Фуйю), а в інших — немає.

Перший варіантний тип плоду хурми, за сучасною класифікацією це тип PVNA, був зафіксований у Японії в 1214 році, а перший нетерпкий тип плоду PCNA — сорт Гошо — задокументовано в 17 столітті. Найвідоміші сорти типу PCNA — Фуйю і Джиро — з'явилися в 19 столітті. Станом на 1912 рік у Японії з 1000 сортів хурми східної було лише 6 сортів типу PCNA й 401 сорт типу PVNA. З понад 950 китайських сортів хурми існує лише один сорт типу PCNA — Люо Тянь Тянь Ші (Вонг, 1982), всі інші сорти відносяться до типу PCA (Вонг та інші, 1997) [5]. У Кореї дослідники Чоу і Чоу (1965) зібрали, ідентифікували 186 корейських сортів хурми, і всі вони мають терпкі плоди. Кім і Ко в 1997 році писали про дві форми PCNA,

одну PVNA і дві PVA, знайдені серед 100 місцевих форм, з яких всі інші форми типу PCA [5]. Отже, за всю історію культури хурми східної у Корей та Китаї нетерпкі форми практично були відсутні.

Можна констатувати, виходячи з історичного огляду появи нетерпкого типу плоду хурми, що мутація на втрату терпкості плоду хурми східної відбулася в Японії. Оскільки хурма східна є гексаплоїдом, то така мутація могла відбутися в одній хромосомі з 90, тобто в одному з шести геномів. Але з часом від повторних схрещувань між родинними сіянцями, з насиченням у наступних поколіннях цією рецесивною ознакою (вважаю, в 4–5 геномах), ця ознака проявилася як домінантна, що було зафіксовано появою у 1214 році сорту Зенджи Мару (PVNA-тип). А поява константно нетерпкої хурми типу PCNA пов'язана вже з насиченням усіх шести геномів хромосомою з мутованим геном, геном нетерпкості.

Відсутність синтезу танінів, відповідальних за терпкість плоду хурми, в біохімічному плані пов'язана з появою ацетальдегіду та етанолу в метаболізмі розвитку плоду з насінням. Скоріше за все, синтез танінів зупиняється на стадії синтезу флавоноїдів, катехінів, тобто в якомусь із ланцюгів шикіматного чи ацетатно-малатного біосинтезу флавоноїдів відсутній фермент для подальшого перетворення катехінів у таніни [1, 2], іде накопичення ацетальдегіду й етанолу, й тим більше, чим більше насіння у плоді, а також хромосом з геном нетерпкості. Тож у плодах типу PVNA, PVA синтез танінів іде за рахунок хромосом (від 1 до 5) з генами терпкості, і при досягнанні плодів відбувається конденсація танінів у флабофени із коричнево-червоним забарвленням. Такі припущення потребують детальних біохімічних досліджень, що виходить за межі цієї статті.

Для України поширення хурми залежить від її морозостійкості й неможливе без міжвидової гібридизації із найбільш морозостійкою хурмою віргінською (до мінус 35° C). Розглянемо можливості отримання нетерпкого та варіантного типу плодів для хурми гібридної. Як бачимо, з появою та історичним розвитком нетерпкого типу плоду хурми східної ознака нетерпкості пов'язана з накопиченням мутації у всіх шести геномах, а також враховуючи, що в плодах з насінням типу PCNA не відбувається потемніння м'якоти плоду, то, вірогідно, геномна формула такого типу буде $O^nO^nO^nO^nO^nO^n$ — тобто, в усіх шести геномах є хромосома із втраченою здатністю синтезувати таніни. То ж для інших типів PVNA, PVA, PCA геномні формули хурми східної будуть такі:

$O^nO^nO^nO^nO^nO^n$ — PCNA

$OO^nO^nO^nO^nO^n$ — PVNA

$OOO^nO^nO^nO^n$ — PVNA

$OOOO^nO^nO^n$ — PVA — при рівному співвідношенні домінує терпкість;

$OOOOO^nO^n$ — PVA

$OOOOOO^n$ — PVA, може, навіть PCA, потребує досліджень

$OOOOOO$ — PCA,

де $O = x = 15$ — геном, первинне геномне число терпкого типу плоду *D. kaku*,
а $O^n = x = 15$ — геном, первинне геномне число нетерпкого типу плоду.

Порівнюючи з наведеними в статті [3] варіантами теоретично можливих співвідношень геномів гібридів хурма віргінська — хурма східна, їх морозостійкості з розподілом типів плоду „терпкість-нетерпкість” для східної хурми, можемо мати хурму гібридну за розподілом:

геномна формула — тип плоду — морозостійкість

$V V V V V V$ — PCA — мінус 32 °C (окремі мінус 35 °C)

$V V V V V O^n$ — PVA або PCA мінус 30,3 °C

$V V V V O^n O^n$ — PVA мінус 28,7 °C

$V V V O^n O^n O^n$ — PVA мінус 27 °C

$V V O^n O^n O^n O^n$ — PVNA мінус 25,3 °C

$V O^n O^n O^n O^n O^n$ — PVNA мінус 23,7 °C

$O^n O^n O^n O^n O^n O^n$ — PCNA мінус 22 °C,

де $V = x = 15$ — геном, первинне геномне число хурми віргінської терпкого типу *D. virginiana*.

Можна зробити висновок, що морозостійкі (нижче мінус 27 °C) міжвидові гібриди можуть бути лише PVA — типу. То чи все так безнадійно, якими шляхами ми могли б отримати нетерпку (хоча б варіантну) морозостійку гібридну хурму? Виходячи із закону гомологічних рядів М. І. Вавилова, маємо можливість позитивно вирішити цю проблему.

По-перше, потрібно дослідити на зрізах тверді забарвлені плоди сортів хурми віргінської з метою відібрати плоди PVA — типу за потемнінням м'якоті біля насіння; тоді вдасться швидше отримати селекцією PVNA — тип, а подальші повторні, насичуючі схрещування дали б змогу наблизитися до PCNA — типу плоду у гібридів. Тут дуже важлива співпраця із колегами з США.

По-друге, спробувати отримати мутанти віргінської хурми, що матимуть ген нетерпкості, провести подальші насичуючі схрещування, ідентифікацію.

По-третє, враховуючи, що геноми, хромосоми східної та віргінської хурми достатньо гомологічні, вирощено чимало міжвидових гібридів, то й у процесі мейозу не виключається обмін гомологічними хромосомами між геномами віргінської та східної хурми, інтрогресія. Це не виключається й у подальших схрещуваннях, внаслідок яких заміна малої частини хромосом в геномі віргінської хурми на хромосоми східної призведе до меншої втрати морозостійкості гібридів, щодо яких необхідні знову відстеження хромосом з геном нетерпкості й подальше насичення.

По-четверте, не виключається можливість кросинговеру гену нетерпкості з хурми східної в хромосому віргінської з подальшими ідентифікацією та насичуючими схрещуваннями.

По-п'яте, можливо, колись нетерпка морозостійка хурма буде створена методами генної інженерії.

Поєднуючи геномні схеми розподілу типів плоду для гібридної хурми, наведені в цій статті, й трансформуючи їх з наведеним в статті [3], бачимо, що небагато варіантів схрещувань дадуть бажаний результат, та ще й з малим процентом виходу потрібних форм. Отже, треба мати чималі сім'ї гібридів. Міжвидові гібриди першого покоління зав'язують дуже мало насіння, й окрім візуального контролю наявності типів PVA та PVNA потрібні чіткі інструментальні методи контролю й маркери.

Висновки

Визначення геномних формул для різних типів (PCA, PCNA, PVA, PVNA) плоду хурми східної дає змогу планувати схрещування з метою одержання нетерпкої морозостійкої гібридної хурми.

Література

1. *Запрометов М. Н.* Биохимия катехинов. — М.: Наука, 1964. — С. 122–161.
2. *Запрометов М. Н.* Основы биохимии фенольных соединений. — М.: Высшая школа, 1974.
3. *Кравченко В. П.* Перспективи селекції хурми гібридної (*Diospyros* sp.) як плодової культури помірного клімату // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. / НАН України, УААН, АМН України, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова, редкол.: В. А. Кунах (голов. ред.) [та ін.]. — Т. 6. — К., Логос, 2009. — С. 326–331.
4. *Пасенков А. К.* Итоги сортоизучения восточной хурмы в Никитском ботаническом саду // Труды ГНБС. — Т. XLVII. — Харьков, 1970. — С. 34.
5. *Yonemori K., Sugiura A., Yamada M.* Persimmon Genetics and Breeding // Plant Breeding Reviews, Volume 19. — 2000, John Wiley & Sons, Inc. — P. 191–225.

Резюме

На геномному рівні розглянуто успадкування смакової ознаки терпкості-нетерпкості плодів хурми східної та можливості отримання нетерпкості гібридами з віргінською хурмою.

На геномном уровне рассмотрено наследование вкусового признака терпкость-нетерпкость плодов хурмы восточной и возможности получения нетерпкости гибридами с виргинской хурмой.

Heredity of the taste trait astringency — non-astringency of the fruit of oriental persimmon and possibility of obtaining the trait of non-astringency by hybrids with American persimmon have been considered on the genomic level.

КРУГЛЕНА В. П.

*УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
Республика Беларусь, 213410, Могилевская обл., г. Горки, ул. Мичурина, 5,
e-mail: valentina-kruglenya@rambler.ru.*

ВЫЯВЛЕНИЕ РОЛИ ЦИТОПЛАЗМЫ РЖИ В СИСТЕМНЫХ СКРЕЩИВАНИЯХ ТРИТИКАЛЕ И СЕКАЛОТРИТИКУМ

Широкому хозяйственному применению и быстрому росту посевных площадей тритикале в мировом масштабе способствовали результативные государственные селекционно-генетические исследования и создание высокопродуктивных сортов. И культура тритикале прочно заняла свою нишу в структуре производства зерна в Германии, Польше, Республике Беларусь и других государствах.

Для дальнейшего повышения эффективности селекции тритикале значение имеет расширение и обогащение генофонда исходного материала тритикале на основе вовлечения в гибридизацию видового потенциала пшеницы и ржи путем создания новых амфидиплоидов различного геномного состава и ядерно-цитоплазматической структуры. Создание гетероплазматических тритикале с ржаной и пшеничной цитоплазмами будет способствовать оптимизации цитоплазматического фона для рекомбинации и экспрессии генов исходных видов. Использование в системных скрещиваниях нового типа тритикале с цитоплазмой ржи (секалотритикум) позволяет реализовать более полную экспрессию генов в полигеноме амфидиплоида. Это позволит повысить эффективность селекции тритикале на экологическую адаптивность, устойчивость к абиотическим и биотическим факторам, так как цитоплазматические гены влияют на трансгрессию и рекомбинацию ядерных генов у растений.

Материалы и методы

Полевые опыты были проведены на опытном поле кафедры селекции и генетики «УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия» в 1997–2010 годах.

Гибридизация была проведена по схеме реципрокных скрещиваний. Ежегодно проводились 40–58 комбинаций скрещиваний. В каждой комбинации кастрировали и опыляли 15–25 колосьев. В качестве исходного материала для создания новых форм тритикале были использованы образцы тритикале отечественной и зарубежной селекции и образцы секалотритикум. Гибридизацию проводили кастрацией цветков колосьев материнских форм и помещением их под одиночные изоляторы с последующим опылением цветков пылью отцовских растений.

Гибриды полученные в системных реципрокных скрещиваниях тритикале х секалотритикум были проанализированы по таким важным показателям в практической селекции как завязываемость и всхожесть гибридных зерен. При сравнении гибридных комбинаций по успешности скрещива-

ния использовали показатель завязывания гибридных зерен по отношению к числу опыленных цветков.

Для определения скрещиваемости анализировали все гибридные зерновки, поскольку общее число гибридных семян дает представление об уровне прогамной несовместимости скрещиваемых видов, тогда как всхожесть свидетельствует о степени постгамной несовместимости (Гордей И. А., 1992). Совместимость компонентов скрещиваний была определена по формуле: Совместимость, % = $\sqrt{3 \times ж}$

где 3 — завязываемость гибридных зерен, %

ж — жизнеспособность зерен, %.

Оценку зимостойкости, устойчивости к основным болезням, полегаемости родительских форм тритикале и секалотритикум и созданных на их основе гибридов проводили по методикам Ю. Б. Коновалова (1987).

Результаты и обсуждение

В настоящее время актуальность использования цитоплазмы ржи для решения отдельных проблем селекции тритикале, основных на оптимизации цитоплазматического фона для достижения сбалансированной экспрессии геномов ржи и пшеницы несомненна с научной и практической сторон. Скрещивания гексаплоидных тритикале с секалотритикум и секалотритикум с гексаплоидными тритикале также перспективны в селекционном отношении с целью создания новых генотипов зерновых культур, обладающих рядом полезно-хозяйственных признаков.

Наши исследования позволили выявить положительное влияние цитоплазмы на проявление прогамной и постгамной несовместимости в реципрокных скрещиваниях тритикале и секалотритикум. В качестве показателей скрещиваемости разных форм тритикале использовали завязываемость и всхожесть гибридных зерен. Общая тенденция такова: завязываемость и всхожесть гибридных зерен выше в тех комбинациях скрещиваний, где в количестве материнской формы были использованы образцы секалотритикум. Завязываемость гибридных зерен в комбинациях скрещиваний секалотритикум х тритикале в среднем за годы исследований составила 24,9–66,0%, в комбинациях скрещиваний тритикале х секалотритикум — 13,7–64,5% (Кругленя В. П., 2003; Иванистов А. Н., 2011 г.).

Выявлена генотипическая специфичность скрещиваемости в зависимости от компонентов скрещиваний. Так, количество завязавшихся гибридных зерен с одним и тем же образцом тритикале Tt1mapan в зависимости от отцовского компонента различается в многих комбинациях от 13,7 до 49,62%. Хорошая завязываемость гибридных зерен отмечалась в комбинациях скрещиваний с участием тритикале Dato, линии 107 и др. Отмечалось также достоверное снижение завязываемости гибридных зерен (при $P < 0,05$) в прямых комбинациях скрещиваний с участием тритикале Михась (Кругленя В. П., 2003 г.). Зерновки, полученные в комбинациях скрещиваний тритикале х секалотритикум были овальной формы, зер-

новки обратных комбинаций скрещиваний несколько удлиненно-овальной формы. Для всех гибридных зерновок было характерно наличие морщинистой поверхности.

Выявлено также положительное влияние цитоплазмы ржи на всхожесть. Этот показатель был выше в тех комбинациях скрещиваний где в качестве материнской формы при гибридизации использовали секалотритикум. В целом, в зависимости от комбинаций скрещивания полевая всхожесть варьировала в среднем от 63,5% до 83% (Круглень В.П., Гордей И.А., 2004, Круглень В.П., Иванистов А.Н., 2008). При этом также прослеживается влияние компонентов скрещивания на уровень жизнеспособности. Высокая полевая всхожесть отмечается во все годы проведения исследований как в прямых так и обратных комбинациях скрещиваний с участием тритикале Dato, линии 61, 107, секалотритикум линии 1 и Папарать АД-60.

Генетическая совместимость компонентов скрещиваний при отдаленной гибридизации является главным условием эффективности геномной рекомбинации завязываемости гибридных зерновок и их жизнеспособности. В результате анализа генетической совместимости была выявлена зависимость показателя от подбора материнского и отцовского компонентов скрещиваний. В целом, комбинации скрещиваний, где в качестве материнской формы были использованы образцы секалотритикум превосходили аналогичные прямые скрещивания по показателю генетической совместимости. Была выявлена также зависимость показателя от генотипа форм, используемых при создании гибридов. Лучшими показателями совместимости характеризуются гибридные комбинации с участием тритикале Dato, линии 61, линии 107, секалотритикум Папарать АД-60, линии 1 и др.

Известно, что зимостойкость у тритикале подавляется цитоплазмой пшеницы, поэтому полная реализация генов морозостойкости ржи возможна в ее цитоплазме. Гордей И.А. (2011), Новикова Л.В. (1998) показали, что у секалотритикум наблюдается паритет по геномному составу, который способствует более полной экспрессии генома ржи и проявлению зимостойкости.

Полученные нами результаты согласуются с мнением ученых. У гибридов, полученных на основе скрещиваний (секалотритикум х тритикале) наблюдается более высокое проявление зимостойкости. Были выделены гибридные комбинации, зимостойкость которых превышала сорт-стандарт Михась, которые используются нами в системных скрещиваниях при создании новых генотипов зерновых культур (Круглень В.П., 2002, Круглень Т.В., Иванистов А.Н. 2009). При этом было выявлено, что зимостойкость имела положительную корреляцию с продуктивностью растений ($b=0,2$), что имеет важное селекционно-практическое значение.

Выводы

1. Выявлено положительное влияние цитоплазмы ржи на завязываемость и всхожесть гибридных зерен.

2. У гибридов комбинаций скрещиваний секалотритикум х тритикале наблюдается преимущество по геномному составу, что способствует более полной экспрессии генома ржи и проявлению зимостойкости.

3. Гибридизацию тритикале и секалотритикум следует рассматривать как одно из перспективных направлений дальнейшего повышения эффективности селекции зерновых культур.

Литература

1. Круглень В. П. Скрещиваемость тритикале с секалотритикум. Warszawa-Melitopol. 03–05 wrzesnia 2003. С. 131–134.

2. Иванистов А. Н. Особенности совместимости и наследования хозяйственно ценных признаков у реципрокных гибридов тритикале и секалотритикум. автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / А. Н. Иванистов. УО «БГСХА». Горки, 2011 г. 24 с.

4. Круглень В. П., Гордей И. А. Проявление постгамной несовместимости у гибридов от скрещиваний тритикале и секалотритикум. Вестник, БГСХА, № 1, 2004, с. 27–30.

5. Круглень В. П., Иванистов А. Н. Генетическая совместимость тритикале и секалотритикум в системных скрещиваниях. Вестник, БГСХА, № 3, 2008, с. 57–61.

6. Гордей, И. А. Секалотритикум (*xSecalotriticum*): генетические основы создания и формирования генома / И. А. Гордей, Н. Б. Белько, О. М. Люсиков. — Минск: Беларус. навука, 2011. 214 с.

7. Новикова, Л. В. Секалотритикум: создание селекционно-генетическое изучение / Л. В. Новикова // Роль адаптивной интенсификации земледелия в повышении эффективности аграрного производства: материалы Междунар. науч. конф. по проблемам адаптивной интенсификации земледелия; редкол. С. С. Позняк [и др.]. — Жодино, 1998. — Т. 2. — С. 196–200.

8. Круглень В. П. Analiza morfobiologicznych etch hybrydow uzyskanych wefekcil krzyzowania pszenzyta u secalotriticum. IX Miedzynarodowe sympozjum, Ecologiczne aspekty mechanizacji produkcji roslinnej, Warszawa 2002.

9. Круглень, Т. В. Анализ зимостойкости тритикале и секалотритикум / Т. В. Круглень, А. Н. Иванистов // Хозяйственная деятельность и окружающая среда: сб. научн. тр. студентов и магистрантов агроэкологического фак-та; под ред. Т. Ф. Персиковой/Горки, 2009. — С. 75–77.

10. Гордей, И. А. Тритикале: генетические основы создания / И. А. Гордей. — Минск: Навука і тэхніка, 1992. — 287 с.

11. Коновалов, Ю. Б. Практикум по селекции и семеноводству полевых культур / Под ред. Ю. Б. Коновалова. — М.: Агропромиздат, 1987. — 367 с.

Резюме

Выявлено положительное влияние цитоплазмы ржи на завязываемость, всхожесть гибридных зерен комбинаций скрещиваний секалотритикум х тритикале. У гибридов этих комбинаций скрещиваний проявляется более полная экспрессия генома ржи, что способствует проявлению зимостойкости.

A positive influence of rye cytoplasm on fertilization germination of hybrid grain of crossing combinations of secalotriticum and triticale has been found. Hybrids of these crossing combinations show more complete expression of rye genome which contributes to winter resistance.

О НАСЛЕДОВАНИИ ПРИЗНАКОВ У *FRAGARIA* × *ANANASSA* DUCH.

Геном октоплоидной садовой земляники *Fragaria* × *ananassa* Duch. ($2n = 8x = 56$) является одним из сложнейших для понимания наследования. E. Lerceteau-Köhler с соавторами (2003) при картировании генов *F.* × *ananassa* постулировали смешанное ди — и полисомическое наследование признаков. Однако данное заключение было основано только на отклонениях от дисомических схем. Альтернативной гипотезы, объясняющей отклонения, до сих пор предложено не было, тем не менее, согласно данным опубликованных диплоидных карт, отклонения от ожидаемой сегрегации аллелей происходят довольно часто (Sargent *et al.*, 2006). Анализ сегрегации микросателлитных локусов у культурных и диких октоплоидов (Ashley *et al.*, 2003) показал, что различные маркеры передавались потомствам по дисомической схеме, подтверждая предположение о высокой степени диплоидизации генома *F.* × *ananassa*. Также проводилось изучение сегрегации серии CAPS-маркеров, соответствующей одному локусу, для того, чтобы проверить гипотезу дисомической сегрегации (Kunihisa *et al.*, 2005). В этом исследовании результаты показали, что геном *F.* × *ananassa* состоит из нескольких независимых единиц. Так или иначе, несмотря на расширяющийся пул знаний о наследовании признаков у *F.* × *ananassa*, этот вопрос до сих пор остается открытым.

В настоящее время преимущественно изучено наследование признаков, обуславливающих высокий урожай данной культуры (Galletta, Maas, 1990). А. Masny с коллегами (2008) проводили диаллельные скрещивания различных сортов крупноплодной земляники с целью определения общей и специфической комбинационной способности для ряда хозяйственно-ценных признаков (характер роста растений, мощность развития, время созревания плодов, урожайность, масса плодов, восприимчивость к серой гнили плодов и белой пятнистости, мучнистой росе и ожогу листьев). Установлено, что при наследовании таких признаков как время созревания плодов, урожайность и качество плодов, а также восприимчивость растений к заболеваниям листьев большое значение имеют как аддитивный, так и неаддитивный эффект. Наибольший вклад аддитивного действия наблюдался для признака «срок созревания плодов». Оценка общей и специфической комбинационной способности важна для таких признаков как количество цветоносов, количество цветков, количество плодов и дней до цветения (Lai, Seth, 1982). По мнению авторов, для всех поколений и признаков, важным оказалось влияние цитоплазмы.

Некоторые признаки у крупноплодной земляники наследуются согласно простым менделевским схемам. Так, J. Oydvín (1980) определил, что признак прижатых волосков опушения цветоносов (ss) у октоплоидной культурной земляники является моногенно наследуемым рецессивным признаком. Этот признак присутствует у сортов Abundance, Dybdahl и Soltwedel. Сорта Pocahontas, Tamella, Zefyr, Belrubi и Senga Sengana и др. имеют отстоящие волоски на цветоносах и генотип SS или Ss.

За последние десятилетия было предпринято множество попыток изучения генетики количественных признаков земляники различными способами, начиная от статистического анализа различий средних внутри потомств, заканчивая сложными определениями вклада наследственности в выражение признака, такими как определение типов дисперсии (генетическая варianza в сравнении с вкладом влияния окружающей среды) и т. д. Стоит подчеркнуть, что результаты индивидуальных количественных анализов не могут быть использованы для универсального понимания генетики земляники, поскольку каждый из них зависит от состава анализируемой популяции, взаимодействия растений с окружающей средой, в которой они были выращены, и методов, используемых для анализа (Galletta, Maas, 1990).

R. Watkins и L. Spangelo (1971) было показано, что до 40% общей генетической изменчивости таких признаков, как устойчивость к мучнистой росе, количество цветоносов, внешний вид плодов и их количество, коммерческая урожайность, ожог листьев и пригодность к переработке носит неаддитивный характер. К подобным выводам пришел и J. Hortynski (1980), которым было установлено, что большинство признаков размера, мощности и листовой поверхности растений, а также компоненты урожая плодов, обладали сильным неаддитивным эффектом.

H. Gooding с соавторами (1975) сообщают, что место выращивания оказывало наибольшее влияние на признак «число цветоносов на розетку». Низкое число цветоносов на розетку частично компенсировалось высоким числом плодов на соцветии. Место выращивания оказывало наименьший эффект на размер плодов. Вклад условий выращивания и общей комбинационной способности оказался важнее, чем их взаимодействие, поэтому общий урожай и высокое отношение числа плодов на соцветие оказывали меньшее влияние на стабильность урожая, чем отбор на высокое число цветоносов на розетку. J. Hortynski (1980) установил, что урожайность сеянцев более всего зависела от сочетания таких компонентов как количество плодов, отношения количество цветков/количество соцветий и вес плодов. Размер и мощность сеянцев, а также площадь листовой поверхности во время сбора плодов или предыдущей осенью также оказывали влияние на урожайность. Влияние окружающей среды находилось в высокой корреляционной зависимости с урожайностью и характеристиками роста растений. Некоторые авторы отмечают наличие аддитивного эффекта для таких при-

знаков как количество листьев, соцветий, плодов и семян, а также урожая плодов, при условии высокой комбинационной способности и высокого коэффициента наследуемости у задействованных в эксперименте форм (Lai, Seth, 1982). Неаддитивный эффект был выявлен авторами для количества столонов, дней до формирования столонов, цветения или созревания, высоты соцветий, размера цветка или плода, количества сухого вещества и содержания витамина С.

W. Wenzel (1980) изучал такие признаки как урожайность, размер плодов, пригодность к заморозке и содержание сухого вещества. Им были выявлены положительные корреляции для: урожайности — размера плодов, размера плодов — пригодности к заморозке; отрицательные корреляции наблюдались для: содержания сухого вещества — урожайности, урожайности и размера плодов — пригодности к заморозке. Индексы отбора не способствовали ожидаемому увеличению урожая, но облегчили отбор желаемых генотипов по всем признакам.

Для таких признаков крупноплодной земляники как тип пола цветков, тип плодоношения — ремонтантный/неремонтантный, предлагается полисомический тип сегрегации генов (Staudt, 1967; Малецкий и др., 1994; Батурин и др., 1995). Случайное хроматидное расщепление у автополиплоидов осуществляется в том случае, когда участок от гена до центромеры достаточно велик для прохождения кроссинговера. При хроматидной сегрегации у автополиплоидов возникает феномен двойной редукции, т. к. идентичные редуцированные аллели (после кроссинговера и случайного расхождения хроматид в дочерние ядра по завершению второго деления мейоза) случайно оказываются в одной гамете (Малецкий, 2000). Однако в настоящее время нет единого мнения о генетическом контроле признака ремонтантности у октоплоидной земляники. D. Ouresky, G. Slate (1967) установили, что наследование ремонтантности обусловлено несколькими комплементарными доминантными генами, которые расщепляются по октоплоидному типу. Таким образом, процент ремонтантных семян зависит от генетической структуры ремонтантной родительской формы. L. Powers (1954) обнаружил большие колебания в проценте ремонтантных семян в зависимости от родительских форм. В одних случаях расщепление наблюдалось в соотношении ремонтантных и неремонтантных как 3:1, в других — как 1:1 или 2:1. На основании этих данных автор пришел к выводу о наличии двух и более пар комплементарных генов неодинаковой силы действия и не менее четырех рецессивных генов, контролирующих проявление ремонтантности.

R. Bringhurst и H. Ahmadi (1988) при скрещивании гетерозиготных по ремонтантности сортов получили потомство, константное по этому признаку в поколении F_2 , что, по их мнению, свидетельствует о гомозиготности гибридного поколения. Исследователи предполагают, что контроль признака «ремонтантное плодоношение» осуществляется одним основным ге-

ном *dn* (day neutral) при дисомическом наследовании. Позже этой группой ученых было установлено, что нейтральная реакция на длину дня контролируется одним доминантным аллелем менделевского гена (Ahmadi *et al.*, 1990).

Основная модель наследования пола у представителей рода *Fragaria* была предложена С. Correns, (1928), в дальнейшем она была дополнена Е. Kuhn (1930) и G. Staudt (1967). Согласно представлениям С. Correns, пол цветков у многих видов растений контролируется комплексом генов AG в аутосомах. Согласно данным С.И. Малецкого с соавторами (1994) у крупноплодной земляники наследование пола происходит по полисомической схеме с хроматидным типом сегрегации аллелей в гаметах. В норме соотношение частот сеянцев с пестичными и обоеполыми цветками в семенном потомстве соответствует как 0,45: 0,55, соответственно, т.е. близко к 1:1. Растения с обоеполым типом цветков являются гомозиготными по рецессивному фактору, определяющему обоеполость цветков на растении (Staudt, 1967). При самоопылении обоеполых растений, как правило, в потомстве наблюдается единообразие по половому статусу сеянцев, т.е. они все обоеполые. Н. Ahmadi и R. Bringhurst (1991) установили, что сегрегация по типу пола происходит, скорее, по дисомической, нежели по полисомической схеме.

По полисомической схеме с хроматидным типом сегрегации аллелей в гаметах наследуется розовая окраска венчика у розовоцветковых сортов *F. ananassa* (Батурин, Кузнецова, 2011). Интенсивность окраски венчика в розовый цвет зависит от количества доминантных аллелей, отвечающих за синтез пигментов.

Таким образом, понимание наследования признаков у *F. ananassa* затруднено гибридным происхождением, наличием дискретных (менделевских) и количественных (мультифакториальных) признаков у одного и того же растения, поэтому их наследование до сих пор остается дискуссионным. Тем не менее, для оптимизации селекционного процесса этой важной ягодной культуры необходимо продолжение дальнейших исследований контроля утилитарных признаков у крупноплодной земляники.

Литература

1. Батурин С. О., Кузнецова Л. Л. Репродуктивные особенности и перспективы использования розовоцветкового декоративного гибрида *Fragaria* × *Potentilla* (сорт Frel) в селекции крупноплодной земляники // Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2011. Т. 15, № 4, С. 800–807.
2. Батурин С. О., Сухарева Н. Б., Малецкий С. И. Использование апомиксиса для изучения наследования ремонтантности у земляники крупноплодной (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) // Генетика. — 1995. Т. 31. № 10. — С. 1418–1424.
3. Малецкий С. И., Сухарева Н. Б., Батурин С. О. Наследование пола у апомиксических сеянцев земляники крупноплодной (*Fragaria* × *ananassa*.) Duch // Генетика — 1994. — Т. 30. № 2. — С. 237–243.

4. Малецкий С. И. Биномиальные распределения в генетических и популяционно-генетических исследованиях на растениях. — Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2000. — С. 28–30.

5. Ahmadi H., Bringham R. S., Voth V. Modes of inheritance of photoperiodism in *Fragaria* // Journal of American Society for Horticultural Sciences. — 1990. — Vol. 115. — № 1. — P. 146–152.

6. Ahmadi H., Bringham R. S. Genetics of sex expression in *Fragaria* species // American Journal of Botany. — 1991. — Vol. 78. — № 4. — P. 504–514.

7. Ashley M. V., J. A. Wilk, S. M. N. Styan, K. J. Craft, K. L. Jones. High variability and disomic segregation of microsatellites in the octoploid *Fragaria virginiana* Mill. (Rosaceae) // Theoretical and Applied Genetics. — 2003. — Vol. 107. — P. 1201–1207.

8. Bringham R. S., Ahmadi H., Voth V. Inheritance of the day-neutral trait in strawberries // Acta Horticulturae. — 1988. — Vol. 1. — № 265. — P. 35–41.

9. Correns C. Bestimmung, Vererbungs und Verteilung des Geschlechtes bei den höheren Pflanzen. — Handb. Vererbungs — wissenschaft. — 1928. — Bd. 2. — S. 138.

10. Galleta G. J., Maas J. L. Strawberry genetics // Horticultural Science. — 1990. — Vol. 25. — № 8. — P. 871–879.

11. Gooding H. J., Jennings D. L., Topham P. B. A genotype-environment on strawberries in Scotland // Heredity. — 1975. — Vol. 34. — P. 105–115.

12. Hortynski J. Variability and heritability of some quantitative characters in strawberry seedlings (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) // Genetica Polonica. — 1980. — Vol. 21. — P. 69–81.

13. Kuhn E. Geschlechtsformen der *Fragaria* und ihre Vererbung. — Züchter, 1930. — S. 2–11.

14. Kunihisa, M., Fukino N., Matsumoto S. CAPS markers improved by cluster-specific amplification for identification of octoploid strawberry (*F.* × *ananassa* Duch.) cultivars, and their disomic inheritance // Theoretical and Applied Genetics. — 2005. — Vol. 110. — P. 1410–1418.

15. Lai S. D., Seth J. N. Studies on combining ability in strawberry (*Fragaria* × *ananassa* Duch.): II. Fruit length, fruit diameter, fruit weight, ascorbic acid, total soluble solids and fruit yield // Canadian Journal of Genetics and Cytology. — 1982. — Vol. 24. — P. 479–483.

16. Lerceteau-Köhler E., Guerin G., Laigret F., Denoyes-Rothan B. Characterization of mixed disomic and polysomic inheritance in the octoploid strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) using AFLP mapping Theoretical and Applied Genetics. — 2003. — Vol. 107. — P. 619–628.

17. Masny A., Madry W., Zurawicz E. Combining ability for important horticultural traits in medium- and late-maturing strawberry cultivars // Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. — 2008. — Vol. 16. — P. 133–152.

18. Ouresky D. K., Slate G. L. Behavior on the everbearing characteristics in strawberries // Proceedings of American Society for Horticultural Sciences. — 1967. — Vol. 90. — P. 236–241.

19. Oydvin J. Inheritance of type of pubescence on the pedicels of strawberries (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) // Meldinger fra Norges Landbrukshøgskole. — 1980. — Vol. 59. — P. 1–9.

20. Powers L. Inheritance of period of blooming in progenies of strawberries // Proceedings of American Society for Horticultural Sciences. — 1954. — Vol. 64. — P. 67–70.

21. Sargent D. J., Clarke J., Simpson D. W., Tobutt K. R., Arus P. An enhanced microsatellite map of diploid *Fragaria*. // Theoretical and Applied Genetics. — 2006. — Vol. 112. — P. 1349–1359.

22. Staudt G. Die Genetik und Evolution der Heterozie in der Gattung *Fragaria*. Untersuchungen an *Fragaria orientalis* L. // Z. Pflanzenzucht. — 1967. — Bd 58. — H. 6. — S. 245–277.

23. Watkins R., Spangelo L. P. S. Strawberry selection index components // Canadian Journal of Genetics and Cytology. — 1971. — Vol. 13. — P. 42–50.

24. Wenzel W. G. Correlation and selection indices in strawberry breeding // Agrolantae. — 1980. — Vol. 12. — P. 29–32.

Резюме

Несмотря на ценность крупноплодной земляники *Fragaria* × *ananassa* Duch. ($2n = 8x = 56$) как ягодной культуры, до сих пор не существует единого мнения о том, осуществляется ли наследование признаков у данного вида согласно ди- или полисомическим схемам. Настоящий краткий обзор — попытка обобщить имеющиеся данные о частной генетике крупноплодной земляники.

Despite the fact that garden strawberry *Fragaria* × *ananassa* Duch. ($2n = 8x = 56$) is a valuable berry crop, there is no agreement of opinion regarding the polysomic or disomic inheritance nature of its different traits. This short review is an attempt to summarize current knowledge of particular strawberry genetics.

ЛАЗАРЕНКО Л. М., БЕЗРУКОВ В. Ф., ОЛЕФІРЕНКО В. В.

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

вул. Володимирська, 64, Київ, 01033, Україна; e-mail: lml@univ/kiev/ua

ПОРОГОВА КОНЦЕНТРАЦІЯ АУТОМУТАГЕНІВ У НАСІННІ БАТУНА (*ALLIUM FISTULOSUM* L.)

Природа спонтанного утворення мутацій — одне з важливих питань сучасної біології. Рядом досліджень показано, що мутації можуть виникати під впливом проміжних продуктів метаболізму — так званих аутомутагенів. Мутагенна активність амінокислот (гістидин та аргінін), сечовини, нуклеїнових кислот, алкалоїдів, пігментів, рослинних олій, антибіотиків та інших метаболітів показана на різних об'єктах. Проте для досліджень аутомутагенезу як явища особливо зручним об'єктом є насіння рослин. Явище аутомутагенезу вивчалось свого часу досить активно як вітчизняними, так і зарубіжними дослідниками. Так, зменшення кількості аберацій хромосом в клітинах кореневої меристеми проростків кінських бобів (*Vicia faba* L.) спостерігалось при видаленні насінневої шкірки, а також при пророщуванні насіння у проточній воді (метод відмивання): відповідно 0,9% і 1,6% порівняно з контрольними 17,2%. Крім того, витяжка з насіння *Vicia faba* індукувала аберації хромосом у насінні цибулі трубчастої (вона ж батун — *Allium fistulosum*): 8,2–11,4% порівняно з контрольним 1,25–3,7% [1]. Пророщування ж насіння батуну в проточній воді не привело до зниження кількості аберацій (9,02% порівняно з контрольними 8,04%), що

привело до висновку про нерозчинність аутомутагенів батуну у воді [1]. Проте у роботі *Y. Kato* (1960) було показано що аутомутагени з незрілого насіння батуну можуть розчинятися у воді, спирті, ацетоні та індукувати мутації у насінні цього ж виду [2]. Повідомлялось, що екстракт з цибулин часнику (*A. sativum*) не мав аутомутагенного ефекту, але індукував мутації в корінцях цибулі іншого виду (*A. cepa*) [3]. Обробка насіння батуну 0,05 % розчином перманганату калію призводила не лише до значного зниження частоти аберантних анафаз безпосередньо після обробки (13,8 % порівняно з 32,5 % в контролі), але й до пролонгованого гальмування розвитку хромосомної нестабільності при подальшому зберіганні обробленого насіння [4, 5]. В цих роботах оброблялось (промивалось) насіння різного віку, завдяки чому встановлено, що аутомутагени в насінневій шкірці старіючого насіння батуну не є такими в молодому ще насінні [4, 5].

Наявність в лабораторії колекції насіння різних років репродукції, зібраного з однієї і тієї ж штучно створеної популяції батуну [6] дозволяє одночасно використовувати у дослідженнях генетично однорідне насіння різного віку, з різним рівнем хромосомної нестабільності, а отже, ймовірно, і з різною концентрацією аутомутагенів. Виходячи з цього, метою даної роботи було встановлення моменту появи певної, порогової, концентрації аутомутагенів у старіючому насінні батуну (*Allium fistulosum*), здатної впливати на ще непошкоджені хромосоми.

Матеріали та методика

Використовували генетично однорідне насіння батуну, сорт «Майський», різних років репродукції з однієї і тієї ж штучно створеної популяції рослин [6]. Насіння всіх років репродукції зберігалось за однакових температурних та інших умов, в лабораторії, в темній шафі, в негерметично закритому скляному посуді. Враховуючи біологічну тривалість життя насіння даної популяції батуну, як старе використовували насіння 5-го (53 міс) і 6-го (64 міс) років зберігання (відповідно репродукції 1999-го та 1998-го років), а як молоде — насіння 1-го (5 міс) і 2-го (17 міс) років зберігання (репродукції 2003 і 2002-го років відповідно). У витяжках з насіння означених партій пророщували насіння 2001 року репродукції, вік якого на час постановки експерименту становив 29 місяців (це третій рік зберігання).

Для одержання необхідних водних витяжок насіння (100 шт.) замочували у дистильованій воді, об'ємом 6 мл (об'єм, необхідний для подальшого пророщування у ньому насіння) при 24°C протягом 24 год. Внаслідок чого отримали декілька варіантів витяжок з ймовірно розчиненими аутомутагенами — відповідно витяжки: **В-1998**, **В-1999**, **В-2002** та **В-2003**. Для оцінки контрольних значень показників хромосомної нестабільності насіння всіх досліджуваних партій пророщували в дистильованій воді.

Насіння, як контрольне, так і дослідне, пророщували в чашках Петрі, у термостаті з температурою 24°C. Схожість насіння аналізували на 3-ю добу (72 год) після замочування. Проростки довжиною 4–9 мм фіксували

у суміші етанолу та льодяної оцтової кислоти (3:1). З кореневої меристеми проростків готували тимчасові давлені препарати, фарбовані ацеторсеїном за стандартною, частково модифікованою нами методикою [7]. Аналізували клітини кореневої меристеми проростків анафазним методом, який передбачає облік клітин на стадії анафази та ранньої телофази. Обчислювали частоту аберантних анафаз (ЧАА) — частку анафаз с аберациями від загальної кількості проаналізованих клітин, виражену в процентах; та пошкодженість аберантної клітини як інтегральний показник, що об'єднує кількість абераций на аберантну клітину (КАБАК) і частоту мультиаберантних анафаз (ЧМАА) — частку клітин з 5-ма та більше аберациями від загальної кількості аберантних анафаз [8, 9]. Статистично обробку експериментальних даних проводили загальноприйнятими методами [10].

Результати та обговорення

Раніше було показано, що 3-й рік зберігання (від 24-х до 36-ти місяців) для насіння різних років репродукції є критичним як щодо схожості, так і щодо стабільності хромосом [11, 12]. Після 2–3 років зберігання схожість починає спадати [5], а частота аберантних анафаз — зростати [12]. Саме тому як контрольне для досліджень аутомутагенного впливу витяжок з насіння різного віку обрано насіння репродукції 2001 року, вік якого на час постановки дослідів становив 29 місяців.

Контрольні показники хромосомної нестабільності для різних вікових груп насіння батуну зведено в таблицю 1.

Таблиця 1

Контрольні показники хромосомної нестабільності та схожості насіння батуну різного віку (різних років репродукції та терміну зберігання)

Варіанти дослідів: рік репродукції (вік насіння на час експерименту)	Схожість насіння, %	Проаналізовано анафаз	ЧАА, %	КАБАК, кількість	ЧМАА, %
2003 (5 міс)	65±2,8	760	1,6±0,5	1,22±0,11	0
2002 (17 міс)	71±3,2	525	3,6±0,9	1,17±0,29	0
2001 (29 міс)	66±3,3	603	14,4±1,4	1,30±0,07	0
1999 (53 міс)	37±2,8	551	58,08±2,10	1,56±0,06	5,28
1998 (65 міс)	15±2,1	203	70,94±3,18	1,89±0,1	11,30

Як можна бачити з таблиці 1, частота аберантних анафаз для насіння залежить від віку насіння і має стійку тенденцію до зростання при старінні насіння. Аналогічно зростає і пошкодженість аберантної клітини як за показником КАБАК, так і за частотою МАА.

Пророщування насіння 2001 року репродукції у витяжках **В-2003** та **В-2002** суттєво не впливали на пошкодження хромосом (табл. 2), а поява єдиної мультиаберантної клітини у варіанті з В-2003 не обов'язково є індукованою і може пояснюватись віком контрольного насіння — 29 міс,

Таблиця 2

Вплив витяжок з молодого насіння батуну на схожість та цитогенетичні показники насіння 3-го року зберігання

Варіанти дослідів	Схожість, %	Проаналізовано анафаз	ЧАА, %	КАБАК	ЧМАА, %
Дистилят	66±3,3	603	14,4±1,4	1,30±0,07	0
В-2003	63±2,8	522	14,2±1,5	1,22±0,07	1,35 (1)
В-2002	77±3,0	538	11,0±1,3	1,39±0,09	0

Таблиця 3

Вплив витяжок зі старого насіння батуну на схожість та цитогенетичні показники насіння 3-го року зберігання

Варіанти дослідів	Схожість, %	Проаналізовано анафаз	ЧАА, %	X2	КАБАК	ЧМАА, %
Дистилят	66±3,3	603	14,4±1,4		1,30±0,07	0
В-1999	80±2,8	387	20,2±2,0		1,28±0,09	1,29 (1)
В-1998	68±2,7	520	21,2±1,8		1,16±0,05	0

оскільки клітини з множинними аберациями у насінні батуну починають з'являтися через 18 міс. зберігання і за відсутності зовнішнього мутагенного впливу [11, 13].

У варіантах з витяжками **В-1999** і **В-1998** спостерігається значне зростання показника ЧАА, в той час як показники пошкодженості аберантної клітини не виявили навіть тенденції до зростання (табл. 3). Це може пояснюватись саме індукцією додаткових пошкоджень хромосом в клітинах завдяки збільшенню концентрації мутагенних продуктів метаболізму.

Слід нагадати, що динаміка хромосомної нестабільності у насінні батуну при зберіганні залежить від умов вегетації материнських рослин [12, 14], має характер нерівномірно наростаючих коливань, причому, максимуми і мінімуми коливань значень ЧАА навколо регресійного тренду різних партій насіння не співпадають і не мають якоїсь певної закономірності [12]. До того ж, амплітуда коливань тим вища, чим старіше насіння, і чим вищі значення показників нестабільності. Тому єдина точка експерименту у дослідженнях вікових змін геному насіння методом порівняльного аналізу не завжди строго відображає справжній, прихований стан нестабільності хромосом, хоча не заважає бачити очевидну тенденцію. Саме цим можна пояснити підвищення частоти клітин з аберациями у варіантах **В-1999** і **В-1998** до однакового рівня (табл. 3), хоча насіння 1998 року на рік «старіше» від насіння 1999 року, і хромосомна нестабільність у ньому за всіма показниками суттєво вища (табл. 1).

Висновки

Концентрація автомутагенів у старіючому насінні батуну досягає критичного порогу після 3-х років зберігання насіння, здатної впливати на ще непошкоджені хромосоми. Досяганням цього порогу можна також пояснити те, що після третього року зберігання нестабільність хромосом в насінні батуну різко зростає.

Література

1. Дубинин Н. П., Щербаков В. К. Природа естественного мутационного процесса у *Vicia faba* и *Allium fistulosum* // Докл. АН СССР, 1964. — Т. 159. № 3. — С. 652–655.
2. Yukio Kato. Automutagenic Action of the Extract from Immature *Allium fistulosum* Seeds on Mitosis // THE JAPANESE JOURNAL OF GENETICS Vol.35. No.9. P. 251–256.
3. Дубинин Н. П. Об основных факторах естественного мутационного процесса // Ботанический журнал. — 1958. — 43, № 8. — С. 1093–1107.
4. Лазаренко Л. М., Безруков В. Ф., Храпунов С. Н. Лук батун (*Allium fistulosum* L.) как тест-система для оценки антимутагенности // Цитол. и генет., 1995. — Т. 29. № 4. — С. 66–70.
5. Лазаренко Л. М., Безруков В. Ф. Модифікація вікової динаміки хромосомної нестабільності в насінні батуну (*Allium fistulosum* L.) під впливом перманганату калія // Фактори експериментальної еволюції організмів. Збірник наукових праць. Том 3. — К.: Логос, 2006. — С. 359–363.
6. Лазаренко Л. М., Безруков В. Ф. Цитогенетичний моніторинг штучної популяції *Allium fistulosum* L. // Значення та перспективи стаціонарних досліджень для збереження біорізноманіття. Матеріали Міжнародної наукової конференції, присвяченої 50-річчю функціонування високогірного біологічного стаціонару «Пожижевська». Львів-Пожижевська, 23–27 вересня 2008 р. Львів, 2008. — С. 241–242.
7. Дарлингтон С. Д., Ла Кур Л. Ф. Хромосомы. Методы работы. — М.: Атомиздат, 1980. — 216 с.
8. Куцоконь Н. К., Безруков В. Ф., Лазаренко Л. М., Рашидов Н. М., Гродзинський Д. М. Кількість аберацій на аберантну клітину як параметр хромосомної нестабільності. 1. Характеристика дозових залежностей // Цитология и генетика. — 2003. — 37, № 4. — С. 20–25.
9. Куцоконь Н. К., Лазаренко Л. М., Безруков В. Ф., Рашидов Н. М., Гродзинський Д. М. Кількість аберацій на аберантну клітину як параметр хромосомної нестабільності. 2. Порівняльний аналіз впливу факторів різної природи // Цитология и генетика. — 2004. — 38, № 1. — С. 55–62.
10. Лакин Г. Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 349 с.
11. Лазаренко Л. М., Безруков В. Ф. Динамика хромосомной нестабильности батуну (*Allium fistulosum* L.) гамма-облучение семян разного срока хранения // Цитология и генетика, 2006. — № 4. — С. 31–36.
12. Лазаренко Л. М., Безруков В. Ф. Динаміка хромосомної нестабільності в насінні батуну (*Allium fistulosum* L.) різних років репродукції // Вісник Прикарпатського національного університету імені Василя Стефаника. Серія Біологія. — Івано-Франківськ: Гостинець, 2007. — Вип. VII–VIII. — С. 265–267.
13. Лазаренко Л. М., Безруков В. Ф. Динамика хромосомной нестабильности батуну (*Allium fistulosum* L.): влияние температуры хранения семян // Цитология и генетика, 2008. — № 5. — С. 54–60.
14. Bezrukov V. F., Lazarenko L. M. Environmental impact on age-related dynamics of karyotypical instability in plants // Mutation Research, 2002, October, Vol.520/1–2, P. 113–118.

Резюме

Показано, что мутагенное влияние вытяжек из старых семян батуну на стабильность хромосом молодых появляется после трех лет хранения семян, что мо-

жет свидетельствовать о достижении определенного, критического порога концентрации мутагенных продуктов метаболизма в стареющих семенах. Достижением этого порога можна также объяснить то, что после третьего года хранения нестабильность хромосом в семенах батуна резко возрастает.

It is shown that the mutagenic effects of extracts from old seeds on the stability of chromosomes of the young ones appears at the third year of seeds storage, which may indicate reaching a certain critical threshold concentration of automutagenes in aging seeds. Reaching this threshold can also explain the significant increasing of chromosomes instability in the seeds of Welsh onion after the third year of storage.

ЛЕВИТЕС Е. В., КИРИКОВИЧ С. С.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт цитологии и генетики СО РАН, Россия, 630090, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 10,
e-mail: levites@bionet.nsc.ru*

ПОСТМЕЙОТИЧЕСКИЙ АПОЗИГОТИЧЕСКИЙ КОМБИНАТОРНЫЙ ПРОЦЕСС У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS L.*)

В настоящее время получено много фактов, указывающих на полиморфизм в агамоспермных потомствах, а также на то, что соотношение фенотипических классов в этих потомствах определяется комбинаторными процессами, различными по своей природе, такими как расхождение хромосом в мейозе [1] и потеря избыточных копий областей хроматид клеткой, вступившей в эмбриогенез [2]. Оба эти процесса могут происходить при образовании агамоспермного потомства одного и того же растения, что делает необходимым поиск экспериментальных моделей, позволяющих различить вклад обоих процессов в выявляемый полиморфизм.

Материалы и методы

В исследование были взяты агамоспермные потомства от двух пыльцестерильных растений из коллекции лаборатории популяционной генетики растений ИЦиГ СО РАН. Семена используемых в работе форм свеклы перед проращиванием обрабатывали 0.1 % раствором колхицина в условиях, позволяющих воздействовать на геном, но не приводить к полиплоидизации растения (6 часов при 18°C в темноте), после чего семена отмывали проточной водой, проращивали в термостате и затем высаживали в гидропонную теплицу. Контрольные растения выращивали из необработанных семян. После яровизации растения выращивали в грунте, а в период цветения растения накрывали бязевыми изоляторами для предотвращения попадания посторонней пыльцы. В качестве маркерного признака был взят изоферментный спектр алкогольдегидрогеназы (ADH1, E. C. 1.1.1.1.), контролируемой локусом *Adh1*. Электрофорез и выявление изоферментов проводили по стандартным методикам, описанным ранее [3]. Теоретические расчеты частот фенотипов проводили по предложенному Дж. Холдейном

методу, в основе которого лежит использование гипергеометрической схемы распределения вероятностей, применяемой для описания комбинаторных процессов [4].

Результаты и обсуждение

Изоферментный спектр ADH1 гомозиготных растений генотипов *Adh1-F/Adh1-F* (сокращенно *FF*) и *Adh1-S/Adh1-S* (сокращенно *SS*) выявляется на электрофореграмме одной полосой, соответственно, с быстрой (*FF*) или медленной (*SS*) электрофоретической подвижностью. У гетерозигот *Adh1-F/Adh1-S* (сокращенно *FS*) на электрофореграмме выявляется трехполосный изоферментный спектр *FS*, легко отличимый от каждого из двух типов гомозигот. Таким образом, методом электрофореза можно различить все три фенотипических класса.

Результаты анализа агамоспермных потомств представлены в таблице 1. Можно видеть симметричность выявленных соотношений фенотипических классов, которая указывает на то, что образование данных потомств происходило без опыления, сопровождаемого обычно проявлением гена самонесовместимости и достоверным отклонением выявляемых соотношений фенотипических классов от теоретических менделевских соотношений 1:2:1 [5].

Соотношение фенотипических классов 18FF:48FS:17SS в контрольном агамоспермном потомстве № 1-контр хорошо соответствует соотношению 3:8:3 ($\chi^2=0.044$; $P>0.05$) (табл. 1), что типично для гамет, когда полиморфизм обусловлен мейозом в тетраплоидных клетках, имеющих по две хроматиды и, следовательно, по две копии каждого из аллелей в каждой хромосоме, т. е. *FF FF SS SS*.

Таблица 1

Соотношение фенотипических классов алкогольдегидрогеназы (ADH1) в агамоспермных потомствах сахарной свеклы

Исследуемая форма	Условия опыта и количество растений	Фенотипы ADH1	$\chi^2_{(3:8:3)}$	$\chi^2_{(1:4:1)}$
		FF FS SS		
№ 1	Контроль, n=1	18 48 17	0.044	2.952
	Колхицин, n=2	31 59 29	2.858	15.735**
№ 2	Контроль, n=3	17 36 17	0.933	7.314*
	Колхицин, n=1	67 92 68	25.596**	68.802**

Вероятность сходства с теоретически ожидаемыми соотношениями:

* — $P<0.05$; ** — $P<0.001$.

Соотношение в потомстве № 1-контр типично для случая, когда авто-сегрегация происходит по хроматидному типу. Хорошее соответствие этому расщеплению также было обнаружено в экспериментальном потомстве этой формы № 1-колх (табл. 1). Соответствие соотношению 3:8:3 подтверждает тот факт, что клетки, вошедшие в эмбриогенез, являлись яйцеклет-

ками, образовавшимися в результате мейоза тетраплоидных материнских клеток мегаспор.

Хорошо известно, что при мейозе полиплоидных клеток генетическое расщепление зависит от степени удаления маркерного гена от центромеры. При тесном сцеплении маркерного гена с центромерой расщепление идет по хромосомному типу, и соотношение генотипов гамет у тетраплоида составляет 1:4:1 [4]. При этом соотношении доля гетерозигот составляет 0,668, и это выше, чем при хроматидном расщеплении 3:8:3, характерном для локусов тетраплоида, удаленных от центромеры более, чем на 50 % перекреста [4]. У тетраплоида в хроматидном расщеплении участвуют восемь хроматид, содержащиеся в четырех хромосомах, и доля гетерозигот в таком случае составляет лишь 0.572.

У формы № 1-контроль соотношение фенотипов соответствует как модели 3:8:3, так и модели 1:4:1. Однако у № 1-колх наблюдается соответствие только соотношению 3:8:3, где доля гетерозигот ниже. Суммарное соотношение фенотипов в потомствах № 2-контр соответствует соотношению 3:8:3 ($\chi^2 = 0.933$; $P > 0.05$) и не соответствует соотношению 1:4:1 ($\chi^2 = 7.314$; $P < 0.05$), что связано с невысокой долей гетерозигот. В опытном потомстве данной формы (№ 2-колх) доля гетерозигот еще меньше. Соотношение фенотипических классов здесь составляет: 67FF: 92FS: 68SS и достоверно отличается как от соотношения 3:8:3 ($\chi^2 = 25.596$; $P < 0.001$), так и от 1:4:1 ($\chi^2 = 69.802$; $P < 0.001$) (табл. 1).

Таким образом, в обеих контрольных группах (№ 1-контр и № 2-контр) соотношения фенотипических классов указывают на то, что сегрегация идет по хроматидному типу. Однако значительное снижение доли гетерозигот, выявленное в группе № 2-колх и приводящее к несоответствию соотношению 3:8:3, свидетельствует о наличии дополнительных факторов, влияющих на полиморфизм в агамоспермном потомстве.

Необычное соотношение фенотипов в потомстве № 2-колх можно объяснить тем, что полиморфизм в агамоспермном потомстве мог быть обусловлен двумя последовательными процессами. Детально эти процессы можно представить следующим образом. Например, в диплоидном гетерозиготном по маркерному локусу растении № 2-колх среди основной массы диплоидных материнских клеток мегаспор генотипа FS присутствовали тетраплоидные клетки, имеющие, соответственно, генотип FFSS. В результате мейоза и хроматидного типа расщепления, а также последующего гаметогенеза из этих клеток образовались диплоидные яйцеклетки трех генотипов в соотношении 3FF:8FS:3SS, что можно выразить в виде следующей суммы частот $0.214FF + 0.572FS + 0.214SS$. При задержке эмбриогенеза, вызванной отсутствием пыльцы и, соответственно, отсутствием слияния гамет, а также под воздействием предобработки материнского растения колхицином в яйцеклетках происходила политенизация хромосом. Политенизация маркерного локуса в гомоаллельных («гомозиготных») клетках,

несущих один аллель, не приводит впоследствии к комбинаторному процессу, в то время как политенизация в гетероаллельных («гетерозиготных») клетках, несущих оба маркерных аллеля, приводит к выявляемому комбинаторному процессу, который может существенно сказываться на соотношении фенотипических классов в потомстве. Предположим, что в диплоидных яйцеклетках генотипа FS в период задержки эмбриогенеза прошел один цикл политенизации участков хромосом, несущих аллели F и S . Тогда яйцеклетки данного растения будут содержать по 2 копии каждого из аллелей. Состояние локуса, находящегося в политенизированном участке хромосом, можно обозначать с помощью понятия «полигенотип» [6], которое характеризует аллельный состав локуса, число хромосом и число хроматид, несущих каждый из аллелей. В рассматриваемой ситуации полигенотип маркерного локуса в гетероаллельных («гетерозиготных») яйцеклетках можно обозначить как F_2S_2 .

Согласно предложенной ранее гипотезе вступившая в эмбриогенез клетка освобождается от избытка копий целых хроматид или их отдельных участков [2]. Предполагается, что диминуция проходит по вероятностным законам, позволяющим рассчитать соотношение генотипов в потомстве. Необходимо указать еще на одно важное допущение. Полученные ранее многочисленные факты позволяют предполагать, что во вступившей в эмбриогенез клетке перед её первым делением происходят процессы перекреста и обмена участками хроматид политенизированных районов. Это означает, что участок хроматиды, принадлежащей одной хромосоме, может замещаться аналогичным участком хроматиды, принадлежащей другой хромосоме. Таким образом, мы допускаем, что в клетке, вступившей в эмбриогенез, в момент её первого деления происходит такой же обмен участками хроматид, какой существует в ходе первого деления мейоза.

Из клеток полигенотипа F_2S_2 в результате равновероятной диминуции избыточных копий аллелей происходит образование трех типов клеток в следующих относительных долях: $1FF:4FS:1SS$, что можно выразить в виде следующей суммы частот $0.166FF + 0.668FS + 0.166SS$. Таким образом, для клеток генотипа FS получаем частоту 0.668. Подставляя в выражение $0.214FF + 0.572FS + 0.214SS$, описывающее соотношение яйцеклеток, выражение $0.166FF + 0.668FS + 0.166SS$, описывающее соотношение генотипов, образующихся в результате диминуции избытка хроматид из яйцеклеток полигенотипа F_2S_2 , получаем:

$$\begin{aligned} & 0.214FF + 0.572FS + 0.214SS = \\ & = 0.214FF + 0.572(0.166FF + 0.668FS + 0.166SS) + 0.214SS = \\ & = (0.214 + 0.572 \times 0.166)FF + 0.572 \times 0.668FS + (0.214 + 0.572 \times 0.166)SS = \\ & = 0.309FF + 0.382FS + 0.309SS. \end{aligned}$$

Проведенные расчеты показывают, что определенная часть гетероаллельных яйцеклеток после диминуции дает зародыши, пополняющие клас-

сы гомоаллельных генотипов, что и приводит к уменьшению доли гетероаллельных.

Экспериментально найденное соотношение 67FF: 92FS: 68SS хорошо соответствует теоретически ожидаемому ($\chi^2 = 0.529$; $P > 0.05$). Это указывает на то, что принятые предположения и используемая модель верны.

Таким образом, полученные данные вносят вклад в объяснение механизма изменчивости в агамоспермных потомствах и позволяют нам утверждать, что наряду с известными комбинаторными процессами, обусловленными случайным расхождением хромосом в мейозе и случайным объединением гамет, существует и постмейотический комбинаторный процесс, обусловленный политенизацией хромосом и равновероятной потерей (диминутией) избыточных копий хроматид в первом делении эмбриогенеза.

Хорошее соответствие экспериментальных данных теоретическим служит также подтверждением предположению о существовании обмена участками хроматид между гомологичными хромосомами во вступившей в эмбриогенез клетке в момент её первого деления.

Литература

1. Малецкий С. И., Малецкая Е. И. Самофертильность и агамоспермия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. — 1996. — Т. 32, № 12. — С. 1643–1650.
2. Levites E. V. Sugarbeet plants produced by agamospermy as a model for studying genome structure and function in higher plants // Sugar Tech. — 2005. — V. 7, № 2–3. — P. 67–70.
3. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений. — Новосибирск: Наука, 1986. — 144 с.
4. Haldane J. B. S. Theoretical genetics of autopolyploids // J. Genet. — 1930. — V. 22, № 3. — P. 359–372.
5. Малецкий С. И., Коновалов А. А. Наследование алкогольдегидрогеназы у сахарной свеклы. Сообщение 1: Анализ отклонений от моногенного расщепления // Генетика. — 1985. — Т. 21, № 9. — С. 1527–1534.
6. Левитес Е. В., Кирикович С. С. Автосегрегация ферментных локусов в агамоспермных потомствах триплоидных растений сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. — 2011. — Т. 47, № 7. — С. 945–951.

Резюме

Исследовано влияние колхицина на соотношение фенотипических классов ферментного локуса, контролирующего алкогольдегидрогеназу (ADH1) в агамоспермных потомствах сахарной свеклы. Полученные данные указывают на то, что колхицин вызывает политенизацию гомологичных участков хромосом, несущих аллели маркерного локуса *Adh1*. Сделан теоретический расчет частот образующихся яйцеклеток, расчет дальнейшего развития яйцеклеток, вступающих в эмбриогенез без оплодотворения, а также расчет диминутции избыточных копий участков хромосом, несущих аллели маркерного локуса. Совпадение теоретического и экспериментального соотношений фенотипических классов указывает на существование постмейотического апоzigотического комбинаторного процесса у растений.

The effect of colchicine on phenotypic classes ratio of the enzyme locus controlling alcohol dehydrogenase (ADH1) in sugar beet agamosperous progenies was analysed. The obtained data are indicative of the thing that colchicine causes polytenization of

homological chromosome regions carrying marker locus *Adh1* alleles. Theoretical calculation of the formation of egg cells frequencies and those of further development of egg cells entering embryogenesis without fertilization, also the diminution calculation of excessive chromosome regions carrying marker locus alleles have been made. The coincidence of theoretical and experimental ratios of phenotypic classes indicates the existence of post-meiotic apozygotic combinatory process in plants.

ЛЯХ В. А., БОЙКАЯ А. А.

Запорожский национальный университет,
Украина, 69063, г. Запорожье, ул. Жуковского, 66,
e-mail: genetika@znu.edu.ua

НАСЛЕДОВАНИЕ ТИПА РАЗВИТИЯ У МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ ЛУННИКА

Лунник — ценное декоративное и, одновременно, перспективное сельскохозяйственное растение из семейства *Brassicaceae*. Интерес к нему как к ценной масличной культуре обусловлен наличием в составе масла семян данного растения нервновоной кислоты. В связи с недавним вовлечением в культуру генетика лунника практически не изучена.

Род *Lunaria* L. представлен двумя видами — *Lunaria annua* L. (лунник однолетний) и *Lunaria rediviva* L. (лунник оживающий). Последний по типу своего развития является многолетним видом. Оба вида имеют одинаковое число хромосом ($2n=28$). Недавно нами впервые были получены межвидовые гибриды лунника, оказавшиеся достаточно плодовитыми [1].

Целью данной работы было изучить особенности наследования типа развития растения у межвидовых гибридов лунника реципрокных комбинаций скрещивания.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили гибриды F_1 от скрещивания *L. annua* и *L. rediviva* в реципрокных комбинациях, родительские компоненты гибридов, а также потомки этих гибридов.

Гибриды F_1 и исходные виды высевали одновременно в условиях фитотрона. Семена от самоопыления каждого гибридного растения делили на две части. Одну высевали в условиях поля, другую — в фитотроне. Для выявления соответствия фактического расщепления по типу развития в F_2 теоретически ожидаемому использовали метод хи-квадрат [2].

Результаты и обсуждение

Установлено, что межвидовые гибриды F_1 лунника обеих комбинаций скрещивания зацветали лишь на второй год жизни как и *L. rediviva*, в отличие от *L. annua*, растения которого цвели, образовывали плоды и отмирали в течение одного периода вегетации. То есть, как у гибридов F_1 *L. annua* x *L. rediviva*, так и *L. rediviva* x *L. annua* доминировал многолетний тип развития.

О доминировании многолетнего типа развития над однолетним свидетельствуют и результаты расщепления популяций F_2 , выявившими значительное преобладание в их составе растений, зацветающих на второй год жизни. Однако расщепление среди потомков гибридов F_1 двух комбинаций скрещивания несколько различалось. Так, в популяциях F_2 от скрещивания *L. rediviva* с *L. annua* соотношение растений с многолетним и однолетним типом развития было существенно сдвинуто от 3:1 в сторону первого фенотипа и составляло 6,65:1 (табл.), что, очевидно, обусловлено влиянием цитоплазмы *L. rediviva*. Среди потомков гибридов F_1 , материнским компонентом которых был однолетний вид *L. annua*, выявляли уже не две, а три группы растений, различающихся по типу развития. Кроме растений с однолетним и многолетним типом развития здесь появлялись растения с промежуточным фенотипом. Они зацветали в первый год жизни, но значительно позже однолетников, при этом не отмирали. Весной они цвели повторно, после чего погибали. Доля таких растений в популяциях F_2 была достаточно высокой.

Таблица

Расщепление по типу развития в потомствах межвидовых гибридов лунника

Номер гибридной популяции	Условия выращивания	Тип развития		
		однолетний	промежуточный	многолетний
<i>L. rediviva</i> x <i>L. annua</i>				
6	поле	3	0	20
6	фитотрон	6	0	29
10	поле	3	0	31
10	фитотрон	5	0	33
Модель расщепления 3: 1, $\chi^2_{\text{факт.}} = 9,85$; $\chi^2_{01} (df=1)=6,64$.				
<i>L. annua</i> x <i>L. rediviva</i>				
3	поле	10	9	27
3	поле	8	5	9
11	поле	5	3	20
11	фитотрон	9	4	54
Модель расщепления 3: 1, $\chi^2_{\text{факт.}} = 2,64$; $\chi^2_{\text{факт.}} = 5,6$; $\chi^2_{01} (df=1)=6,64$.				

Даже если вышеупомянутый фенотип отнести к многолетникам, то доля растений с однолетним типом развития среди потомков гибридов *L. annua* x *L. rediviva* будет значительно больше, чем среди потомков *L. rediviva* x *L. annua*. А, если растения с промежуточным типом развития составят один класс с типичными однолетниками, то соотношение многолетних и однолетних растений составит уже около 2:1. То есть, очевидно наличие реципрокного эффекта, проявляющегося в увеличении доли растений с однолетним типом развития среди потомков гибридов, цитоплазматическим родителем которых выступал однолетний, а не многолетний вид.

Выводы

Установлено доминирование многолетнего типа развития лунника над однолетним и моногенный контроль признака. При этом выявлено значительное модифицирующее действие цитоплазмы обоих видов на соотношение растений с разным типом развития в потомствах межвидовых гибридов.

Литература

1. Бойка О. А., Лях В. О. Перші міжвидові гібриди лунарії // Наук.-техн. бюл. ІОК УААН, 2009. — Вип. 14. — С. 8–14.
2. Айала Ф. Введение в популяционную и эволюционную генетику. — М.: Мир, 1984. — 232 с.

Резюме

Изучали особенности наследования типа развития растения у межвидовых гибридов лунника реципрокных комбинаций скрещивания. Выявлены простой генетический контроль данного признака и наличие реципрокных эффектов.

Вивчали особливості успадкування типу розвитку рослини у міжвидових гібридів лунарії реципрокних комбінацій схрещування. Виявлено простий генетичний контроль даної ознаки та наявність реципрокних ефектів.

The inheritance peculiarities of plant development type in honesty interspecific hybrids of reciprocal cross combinations were studied. A simple genetic control of the given trait and reciprocal effects were found.

МАЛЕЦКАЯ Е. И., ЮДАНОВА С. С., МАЛЕЦКИЙ С. И.

Институт цитологии и генетики СО РАН; пр. Лаврентьева, 10, 630090, Новосибирск, Россия; e_mal@bionet.nsc.ru

РАЗДЕЛЬНО–СРОСТНОЦВЕТКОВСТЬ В ПОТОМСТВАХ ГАПЛОИДНЫХ И ДИГАПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЁКЛЫ (*BETA VULGARIS* L.)

В норме сахарная свекла формирует на цветоносах цветковые кластеры из 2–4 цветков в соцветиях. Одной из проблем при создании исходного материала для селекции является получение потомств с одиночными цветками на цветоносных побегах (раздельноцветковые растения). Наследование признака раздельно-сростноцветковости (РЦ-СЦ признак) у свеклы изучено недостаточно. Во многих экспериментах показано, что этот признак нестабилен и его наследование не подчиняется правилам Менделя. Нестабильность экспрессии РЦ признака присуща сортам-популяциям, инбредным линиям и растениям сахарной свеклы, полученным клонированием [9]. Рассматривая эту проблему с точки зрения сегодняшнего понимания теории наследственности, был сделан вывод об эпигенетической природе наследования РЦ-СЦ признака у свеклы [7].

Гаплоидия — один из путей решения важной селекционной задачи по созданию устойчивых по фенотипу РЦ форм. Семена с гаплоидным набором хромосом могут возникать спонтанно у растений, репродуцируемых как зиготическим, так и апозиготическим способами [3]. Низкая частота встречаемости гаплоидов в популяциях свеклы (1 гаплоид на 500 000–1 000 000 семян) [1] побудила исследователей искать более эффективные методы их получения. Опыление цветков диплоидной свеклы пыльцой дикорастущих видов или тетраплоидных растений повышает частоту появления гаплоидных проростков примерно на два порядка (10^{-4} – 10^{-6}) [13]. Однако и этот уровень выхода гаплоидов недостаточен для их эффективного использования в практической селекции.

В настоящее время в селекционных учреждениях для получения гаплоидов широко используют культуру *in vitro*. Выход гаплоидов в культуре в среднем не превышает 1–5 % от числа высаженных на среду семяпочек. Результаты клонирования зависят от положения цветка на цветоносном побеге, состава питательной среды, условий произрастания эксплантов *in vitro*, генотипа донорских растений и других причин [14].

Нами разработан беспыльцовый (апозиготический) метод репродукции семян у сахарной свеклы [8]. Показано, что от растений с цитоплазматической мужской стерильностью (ЦМС) у сахарной свеклы можно получать достаточно большое число семян. При однородительской репродукции пыльцестерильных диплоидных растений в потомствах встречаются как гаплоидные, так и дигаплоидные проростки [4].

Цель настоящей работы — анализ автосегрегации в потомствах дигаплоидных и гаплоидных растений сахарной свеклы по РЦ-СЦ признаку у сахарной свеклы.

Материал и методы

В качестве материала для исследования взяты семена двух коммерческих мс-гибридов — «Ленора» и «Ирис». Гибридные пыльцестерильные растения росли на изолированном участке, и репродуцировали семена в беспыльцовом режиме. На цветоносных побегах гибридов закладывались только сросшиеся цветки (от 2 до 5 цветков в соцветиях). Из соцветий формировались соплодия-клубочки (2–5 плодов на клубочек). Семена первого поколения (A_1) апозиготической репродукции использовали для последующего получения семян в беспыльцовом режиме и анализа расщепления по РЦ-СЦ признаку. При проращивании семян (зима 2010 г.) отбирали также гаплоидные проростки по морфобиологическим признакам [2, 10, 4]. Доля выхода гаплоидных проростков для мс-гибрида «Ленора» составила 11,48 % от числа взятых плодов; для мс-гибрида «Ирис» — 12,27 %. Гаплоидные проростки высаживали в отдельные горшочки (фото) и выращивали при +25 °С и влажности 60 % в течение двух месяцев в камере с искусственным климатом. Шкаф искусственного климата «Биотрон-4» изготовлен ГНУ СибФТИ аграрных проблем СОРАСХН. Подросшую рассаду

высаживали в поле (весна-лето 2010 г.) для выращивания из полученных штеклингов корней. Осенью корни убрали, взвешивали их массу и закладывали в овощехранилище на зиму (при температуре +3 °С) для прохождения яровизации. В 2011 г оценивали гаплоидные растения двух гибридов и контрольные дигаплоидные растения (поколение A_1) по сегрегации РЦ-СЦ признака.

Теоретические модели автосегрегации. Под автосегрегацией понимается распределение генов у гетерозигот в клетках диад и тетрад мегаспор, обусловленное расхождением хроматид и локализованных в них генов в мейозе [5]. «В зависимости от числа геномов у гетерозигот возможны моно- ди- и ... полисомические типы сегрегации в мегаспорах, в зависимости от уровня пloidности материнских клеток» [6]. В качестве теоретической модели опишем скрещивание двух растений, несущих доминантные и рецессивные аллели какого-либо локуса (Bb), в зависимости от числа хроматид в хромосомах. Рассмотрим два варианта строения хромосом у родителей; а) число хроматид у родительских линий одинаково и варьирует от 2 до 3; б) анализируемые растения различаются по числу хроматид в хромосомах. В таблице 1 показано: а) соотношение числа хроматид в хромосомах родительских растений; б) число хроматид в хромосомах после их удвоения; в) ожидаемые соотношения генотипов гамет (мегаспор) у четырех гетерозиготных (Bb) генотипов; г) соотношения доминантных и рецессивных фенотипов в поколении A_1 при автосегрегации.

Таблица 1

Теоретически ожидаемые соотношения гено- фенотипов при автосегрегации в поколении A_1 у растений свеклы гетерозиготных по локусу Bb

п/п	Число хроматид в хромосомах исходных растений		Соотношение числа хроматид в материнских клетках мегаспор после удвоения хромосом		Теоретически ожидаемое отношение генотипов гамет в популяции 3М			Соотношение фенотипов при автосегрегации B_: bb
	♀	♂						
1	BB	bb	4B	4b	3BB	8Bb	3bb	11: 3
2	BBB	bbb	6B	6b	5BB	17Bb	5bb	17: 5
3	BBB	bb	6B	4b	5BB	8Bb	2bb	13: 2
4	BB	bbb	4B	6b	6BB	24Bb	15bb	2: 1

При самоудвоении хроматид в клетках генотипа Bb получаем хромосомы с 4 хроматидами (BBbb). При подготовке к мейозу происходит удвоение их числа, и генотип клетки по маркерному локусу будет — BBVBbbbb. При хроматидном типе расщепления соотношение генотипов гамет будет:

$$\left(\begin{matrix} 4 \\ 2 \end{matrix}\right) \left(\begin{matrix} 4 \\ 0 \end{matrix}\right) BB + \left(\begin{matrix} 4 \\ 1 \end{matrix}\right) \left(\begin{matrix} 4 \\ 1 \end{matrix}\right) Bb + \left(\begin{matrix} 4 \\ 0 \end{matrix}\right) \left(\begin{matrix} 4 \\ 2 \end{matrix}\right) bb = \left(\begin{matrix} 8 \\ 2 \end{matrix}\right) = 6BB + 16Bb + 6bb = 28,$$

или соотношение доминантных и рецессивных фенотипов 22 (BB+Bb): 6bb = 11: 3 (табл. 1, п.п 1) (Малецкий, 1997; 2000). Аналогичные расчеты с рав-

ным или неравным соотношением хроматид с доминантными и рецессивными аллелями дают остальные соотношения растений двух фенотипов (табл. 1, п. п. 2–4).

Результаты

Изменчивость массы корнеплодов у гибрида «Ленора» варьировала от 40 до 2500 г., у гибрида «Ирис» от 340 до 2685 г. Средняя масса гаплоидных корней, полученных от гибрида «Ленора» составил в граммах 483 ± 75 , гибрида «Ирис» 726 ± 78 .

Во время цветения описывали изменчивость цветоносных побегов по числу цветков в соцветиях в начале периода цветения и в конце (идентификация РЦ-СЦ фенотипов). Для описания растений по РЦ-СЦ признаку использовали ранее разработанную методику по классификации этого признака [9]. Число цветков в соцветиях всегда больше на ветвях первого порядка и уменьшается на побегах второго и третьего порядков. Результаты по классификации гаплоидных и контрольных растений по признаку раздельноцветковости представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, растения РЦ и СЦ фенотипов встречаются как среди контрольных (дигаплоидных), так и среди гаплоидных растений. Сегрегация по РЦ-СЦ признаку у гибрида «Ирис» осуществлялась по модели 1, а у гаплоидов этого гибрида по модели 2. Модели 1 и 2 (таблица 1) предусматривают равное соотношение хроматид, но в контроле РЦ растений меньше, чем у гаплоидных растений. Очень похожая картина сравнения гаплоидных и дигаплоидных растений по гибриду «Ленора». Контрольные растения сегрегировали по РЦ-СЦ фенотипу в соответствие с моделью 3, при которой число хроматид с доминантным маркером больше, чем с рецессивным. У гаплоидных растений также наблюдается несоответствие между хроматидами с доминантным и рецессивным маркерами, но картина обратная, чем у контрольных (таблица 1). В этом случае доля РЦ потомков оказалась гораздо выше, чем у контрольных растений.

Таблица 2

Соотношение фенотипов растений по РЦ-СЦ признаку у двух пыльцестерильных гибридов сахарной свеклы в поколении A_1

Варианты опыта	Фенотипы растений, шт.		Всего растений	Теоретически ожидаемые соотношения фенотипов (модель, таблица 1) и значение критерия G	
	СЦ	РЦ		Модель	G
Ирис (контр.)	37 (38.5)*	12 (10.5)	49	1 (11: 3)	0,13 (0,90 ж Р ж 0,95)
Ирис (гапл.)	14 (15.9)	8 (6.1)	22	2 (13: 5)	0,39 (0,50 ж Р ж 0,30)
Ленора (контр.)	118 (117)	17 (18)	135	3 (13: 2)	0.02 (0,90 ж Р ж 0,10)
Ленора (гапл.)	80 (88)	52 (44)	132	4 (2: 1)	1.05 (0,30 ж Р ж 0,50)

*В скобках указаны теоретически ожидаемые значения фенотипов в соответствие с моделями таблицы 1.

Обсуждение

Гаплоиды широко используются в цитогенетических и селекционных исследованиях. Процесс апозиготического семенного размножения у гаплоидов успешно реализуется на базе миксоплоидности клеточных популяций меристем, присущей растениям свеклы. Под миксоплоидией понимается явление, когда в клеточной популяции наряду с доминирующей фракцией клеток с базовым числом хромосом, встречаются фракция клеток, у которых число хромосом в ядрах меньше или больше их основного числа. Одновременное сосуществование гаплоидных, диплоидных и тетраплоидных клеток в меристемах позволяет растениям формировать апозиготическим путем как гаплоидные, так и дигаплоидные семена. В ходе эмбриогенеза имеет место гибель части гаплоидных эмбрионов, так как они могут нести летальные гены, или погибают в ходе конкуренции с дигаплоидными эмбрионами. Спонтанная миксоплоидия клеточных популяций с генетической точки зрения представляет собой эпигеномную изменчивость нуклеарных признаков — вариация числа наборов хромосом в ядрах клеток. Миксоплоидия может присутствовать в разной степени, как в гибридных, так и в линейных материалах свеклы: при инбридинге доля полиплоидных клеток в меристемах повышается [11]. Нами показано, что свойство завязывать семена при апозиготической репродукции сохраняется в последующем поколении. Эту же тенденцию мы наблюдаем и при беспыльцевом размножении у гаплоидов первого и второго поколения [3].

Сравнивая число полученных раздельноцветковых растений у гаплоидных и контрольных (дигаплоидных), можно сказать, что при апозиготической репродукции доля РЦ растений в потомствах гаплоидных растений существенно возрастает.

Настоящая работа выполнялась при финансовой поддержке гранта РФФИ 10-04-00697 а (2010–2012 гг.) и гранта Президиума СО РАН и НАНБ № 3 (2012–2014 гг.).

Литература

1. Добрецова Т.Б., Лутков А.Н., Манжос А.М. Докл. АН СССР. — 1965. Т. 160. — № 2. — С. 454–457.
2. Карпенченко Г.Д. Теоретические основы селекции растений. — М., Л.: «Сельхозгиз». — 1935. — Т. 1. — С. 397–432.
3. Малецкая Е.И., Юданова С.С. Семенная продуктивность гаплоидных растений сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) при апозиготическом способе размножения // Факторы эксперимент. эволюции организмов. — К., Логос. — 2010. — Том 9. — С. 89–93.
4. Малецкая Е.И. Получение гаплоидных растений у сахарной свеклы // Сб. науч. тр. Х генетико-селекционной школы. — 2007. — Новосиб., РАСХН. — С. 205–211.
5. Малецкий С.И. Генетика. — 1997. Т. 33. — № 10. — С. 1333–1340.
6. Малецкий С.И. Биномиальные распределения в генетических исследованиях на растениях. — Новосибирск, ИЦиГ СО РАН. — 2000. — С. 56–60.

7. Малецкий С. И. Эпигенетическая изменчивость признака раздельно-сростноцветковости у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Идентифицированный генофонд растений и селекция. — ГУ ГНЦ РФ ВНИИР. — 2005. — С. 110–124.

8. Малецкий С. И., Малецкая Е. И. Генетика. — 1996. — Т. 32, № 12. — С. 1643–1650.

9. Малецкий С. И. и др. Одноростковость свеклы. Эмбриология, генетика, селекция. — Новосибирск: Наука, 1988. — С. 79–131.

10. Тырнов В. С. Гаплоидия у растений. Научное и прикладное значение. — М.: Наука. — 1998. — 54 с.

11. Юданова С. С. Миксоплоидия клеточных популяций сахарной свеклы и ее связь с репродуктивными признаками. Диссерт. на соискание ученой степени канд. биол. наук. Санкт-Петербург, Всероссийский НИИ растениеводства. — 2004. — 126 с.

12. Юданова С. С., Малецкий С. И. Миксоплоидия клеточных популяций и автосегрегация по локусу *Mt* в потомствах сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) при апозиготии // Биология развития: морфогенез репродуктивных структур и роль соматических, стволовых клеток в онтогенезе и эволюцию Матер. межд. конф. Товарищество научных изданий КМК. — М.: 2010. — С. 140–143.

13. Rosemark N. O. Hereditas. — 1971. — V. 69. — P. 193–204.

14. Hosemans D., Bossoutrot D. Z. Pflanzenzücht. — 1983. — Bd. 91. — № 1. — S. 74–77.

Резюме

При апозиготической репродукции доля РЦ растений у отобранных гаплоидов была выше, чем эта доля у дигаплоидных потомств. Теоретические модели сегрегации показали нестабильность по числу хроматид в хромосомах как у гаплоидных, так и у дигаплоидных растений.

Share of plants with uniflorous inflorescence in haploid plants was higher than in dihaploids plants. An estimation of segregation showed instability of chromatid numbers both in haploids and dihaploids.

НИКОЛАЕВА А. В., КОРШИКОВ И. И.

Донецкий ботанический сад НАН Украины

Украина, 83059, Донецк, пр-т. Ильича, 110, e-mail: dbsgenetics@gmail.com

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА ВЫСОКОГО (*JUNIPERUS EXCELSA* ВИБ.) В ГОРНОМ КРЫМУ

Малораспространенный в Горном Крыму реликтовый вид — можжевельник высокий (*Juniperus excelsa* Bieb.) представлен на северном пределе своего естественного распространения небольшими изолированными популяциями. Они отличаются низкой плотностью растений, а поэтому получили название — можжевельниковые редколесья. Многие годы эти редколесья подвергаются избыточным антропогенным нагрузкам, и особенно в последние 30 лет, приводящим как к ухудшению эколого-эдафических условий

произрастания растений, так и нередко к их гибели из-за вырубок и локальных пожаров. Учитывая биологические особенности пространственной структуры редколесий *J. excelsa* и нерациональное, а часто и не оправданное отношение к ним человека, представляется целесообразным и неотложным изучение состояния популяционного генофонда этого важного для деңдрофлоры Крыма вида.

Цель работы — анализ популяционно-генетического полиморфизма *J. excelsa* в Горном Крыму для оценки разнообразия его генофонда на северном пределе естественного распространения.

Объектами исследований служили генеративные растения шести популяций *J. excelsa* в Крыму, расположенных от Мыса Айя до Карадага, охватывая весь крымский ареал. Исследуемые выборки из этих популяций насчитывали от 18 до 37 растений. Для определения генотипа растения в качестве молекулярных маркеров использовали изоферменты 9 ферментных систем (табл. 1.). Ранее для этих ферментов *J. excelsa* нами был установлен генетический контроль [1]. Электрофоретическое разделение ферментов проводили в вертикальных пластинках 7,5%-ного полиакриламидного геля с рН разделяющего геля 8,9 и трис-глициновым электродным буфером с рН 8,3 [2]. Гистохимическое проявление зон ферментативной

Таблица 1

Количество аллелей и генотипов в локусе, средняя полокусная гетерозиготность *Juniperus excelsa* в Горном Крыму

Ферменты	Локус	Количество		Средняя гетерозиготность	
		аллелей	генотипов	наблюдаемая	ожидаемая
Глутаматоксалоацетат-трансаминаза	Got-2	3	5	0,513	0,496
	Got-3	4	4	0,179	0,163
Глутаматдегидрогеназа	Gdh	2	3	0,346	0,380
Кислая фосфатаза	Acp-1	3	6	0,519	0,494
	Acp-2	4	6	0,648	0,529
	Acp-3	4	7	0,449	0,446
	Acp-4	3	6	0,442	0,408
Супероксиддисмутаза	Sod-1	2	3	0,372	0,398
	Sod-2	3	6	0,526	0,484
	Sod-3	3	5	0,404	0,380
Эстераза	Est	3	4	0,090	0,095
Лейцинаминопептидаза	Lap-1	3	6	0,654	0,548
	Lap-3	3	3	0,026	0,025
Малатдегидрогеназа	Mdh-2	3	5	0,647	0,458
	Mdh-3	3	4	0,622	0,468
Формиатдегидрогеназа	Fdh	3	3	0,083	0,081
Диафораза	Dia-1	3	6	0,340	0,353
	Dia-2	3	4	0,064	0,067
В среднем или всего		55	86	0,385	0,355

активности на гелевых образцах осуществляли по общепринятым методам с небольшими модификациями [3]. У большинства растений анализировали ферменты из эндоспермов не менее чем 7 семян, а у деревьев с высокой пустосемянностью — все имеющиеся полнозернистые семена. Для оценки уровня изменчивости определяли частоты аллелей изучаемых локусов. Подразделенность популяций выясняли, используя показатели F-статистик Райта, а дифференциацию устанавливали с помощью генетической дистанции Нея [4]. Аллельную и генотипическую гетерогенность оценивали с помощью χ^2 -теста [5]. При статистической обработке электрофоретических данных использовали пакет компьютерных программ BIOSYS — 1 [6], GenA1EX V. 6 [7].

Результаты и обсуждение

Для 9 ферментных систем *J. excelsa* по результатам электрофоретического разделения их изоферментов установлено 55 аллелей. В отдельных популяциях было от 43 до 50 аллелей. Все 18 исследуемых локусов оказались полиморфными (см. табл. 1), а 13 из них отличались высоким уровнем изменчивости, для которых средняя наблюдаемая гетерозиготность (H_O) была не ниже 34 %. Только у трех из этих тринадцати локусов ожидаемая гетерозиготность была несколько выше наблюдаемой. В шести популяциях *J. excelsa* описано 86 генотипов 18 изученных локусов. Наибольшее количество генотипов (6–7) выявлено у семи локусов Acp-1, Acp-2, Acp-3, Acp-4, Sod-2, Lap-1, Dia-1. Фактическое распределение генотипов соответствовало теоретическому согласно закону Харди-Вайнберга только в двух популяциях — Ласпи и Байдарская долина. В остальных четырех популяциях отмечены случаи существенного расхождения в распределении генотипов по двум — трем локусам (Гаспра, Карадаг) и четырем локусам (Мартьян, Айя).

При сравнении шести популяций аллельная и генотипическая гетерогенность установлена для восьми локусов (табл. 2). По остальным 10 локусам существенных отличий в генетической структуре популяций *J. excelsa* не установлено. Согласно значениям коэффициента F_{IS} для большинства исследуемых локусов свойствен избыток гетерозигот. В среднем для шести популяций *J. excelsa* он составляет 8,7 %. Подразделенность исследуемых популяций невысокая. На межпопуляционные отличия согласно коэффициента F_{ST} приходится 3,2 % от всей генетической изменчивости. Наибольший вклад в подразделенность популяций *J. excelsa* вносят два локуса — Est и Dia-2.

J. excelsa в Горном Крыму отличается высоким уровнем изменчивости. Так, доля полиморфных локусов (P_{99}) в шести исследуемых популяциях изменялась в пределах 83,3–100 % (табл. 3).

Среднее количество аллелей варьировало от 2,333 до 2,778. Высокой во всех популяциях была средняя наблюдаемая гетерозиготность: 0,318–0,459. Для всех популяций характерен избыток гетерозигот: от небольшого — в 0,3 % для Гаспра до значительного в 14,6 % (Айя) и 28,9 % (Мар-

Таблица 2

Значения показателей F — статистик Райта, существенная (*, **, ***)
аллельная и генотипическая гетерогенность *Juniperus excelsa* (χ^2 -тест)

Локусы	F _{IS}	F _{ST}	Локусы	F _{IS}	F _{ST}
	гетерогенность			гетерогенность	
	аллельная	генотипическая		аллельная	генотипическая
Gdh	0,065	0,020	Acp-3	-0,003	0,015
Got-2	-0,032	0,015	Acp-4	-0,090	0,018
Got-3	-0,083**	0,032**	Dia-1	0,061**	0,035*
Lap-1	-0,177*	0,038*	Dia-2	0,011***	0,069*
Lap-3	0,005	0,017	Fdh	-0,033	0,007
Mdh-2	-0,396*	0,030*	Sod-1	0,070	0,030
Mdh-3	-0,321***	0,044***	Sod-2	-0,084*	0,026
Acp-1	-0,053	0,020*	Sod-3	-0,052	0,009
Acp-2	-0,221	0,012	Est	0,074**	0,039

Таблица 3

Значения основных показателей генетического полиморфизма шести природных популяций для *Juniperus excelsa* в Горном Крыму

Название популяций	Кол-во деревьев, шт	Доля полиморфных локусов, P ₉₉	Среднее число аллелей на локус, A	Средняя гетерозиготность		Индекс фиксации Райта, F
				ожидаемая, H _E	наблюдаемая, H _O	
Ласпи	19	0,833	2,444	0,317±0,023	0,333±0,023	-0,050
Гаспра	22	0,889	2,389	0,317±0,021	0,318±0,021	-0,003
Карадаг	37	1,000	2,778	0,378±0,018	0,393±0,017	-0,040
Байд. дол	18	0,944	2,611	0,347±0,025	0,352±0,025	-0,014
Мартьян	30	0,889	2,333	0,356±0,019	0,459±0,018	-0,289
Айя	30	0,889	2,500	0,349±0,019	0,400±0,018	-0,146
среднее		1,00	2,778	0,355±0,008	0,385±0,08	-0,084

трян). По уровню генетического полиморфизма *J. excelsa*, особенно по гетерозиготности, существенно превосходит аборигенные для Горного Крыма виды рода *Pinus* L. Так, например, у наиболее изменчивой сосны крымской (*Pinus pallasiana* D. Don.) средняя наблюдаемая гетерозиготность составляла 20,1 % [8], а у *J. excelsa* она равнялась 38,5 %.

Изолированные популяции *J. excelsa* отличались невысоким уровнем генетической дифференциации. Значения коэффициента генетической дистанции Нея (D_N) варьировали 0,004 до 0,021, составив в среднем 0,015. Дендрограмма, построенная на основании значений D_N не показывала распределение популяций в соответствии с географическим местоположением (рис. 1).

Таким образом, *J. excelsa* в редколесьях Горного Крыма — на северном пределе естественного распространения — отличается высоким уровнем генетической изменчивости. Это, очевидно, эволюционно закрепленная

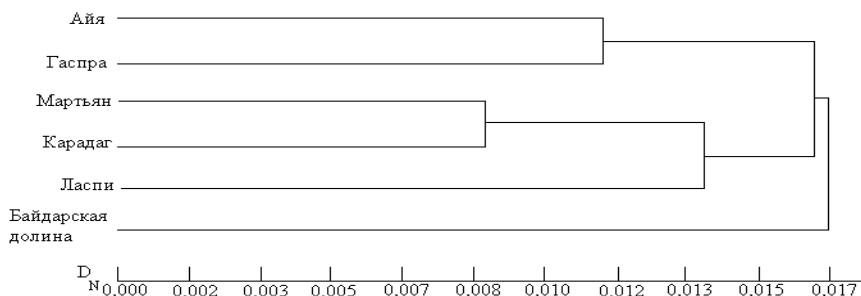


Рис. 1. Дендрограмма, построенная на основании значений D_N шести природных популяций *Juniperus excelsa* в Горном Крыму

биологическая особенность вида, позволяющая ему выживать в не очень благоприятных условиях краевой части его ареала. В популяциях *J. excelsa*, очевидно, не складываются необходимые условия для массового перекрестного опыления растений. Подтверждением этого является очень низкое количество в шишкоягодах полнозернистых и большое число пустых семян, которые, как правило, образуются от самоопыления растений [9]. Генеративного возраста в редколесьях *J. excelsa* достигают, как правило, высокогетерозиготные особи.

Литература

1. Коршиков И. И., Николаева А. В. Генетический контроль аллозимов у можжевельника высокого (*Juniperus excelsa* Bieb.) в Крыму // Цитология и генетика. — 2007. — Т. 41, № 4. — С. 15–19.
2. Davis B. J. Disk electrophoresis. II. Methods and application to human serum proteins // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1964. — Vol. 121. — P. 404–427.
3. Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовкин А. И. и др. Генетика изоферментов. — Москва. — 1977. — 275 с.
4. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. — 1972. — Vol. 106. — P. 283–292.
5. Животовский Л. А. Популяционная биометрия. — Москва. — 1991. — 271 с.
6. Swofford D. L., Selander R. B. BIOSYS-1: a FORTRAN program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics // J. Hered. — 1981. — Vol. 72, № 4. — P. 281–283.
7. Peakall R., Smouse P. E. GenAlexV 6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Molecular Ecology Notes. — 2006. — Vol. 6. — P. 288–295.
8. Коршиков И. И. Популяционная генетика и репродуктивная биология сосны крымской. — Донецк, 2010. — 244 с.
9. Коршиков И. И., Николаева А. В. Изменчивость семенной продуктивности можжевельника высокого (*Juniperus excelsa* Bieb.) в Горном Крыму в разные годы // Автохтонні та інтродуковані рослини. — 2011. — Вып. 7. — С. 78–82.

Резюме

С использованием 18 аллозимных локусов изучено популяционно-генетическое разнообразие *Juniperus excelsa* в пределах его ареала в Горном Крыму. Уста-

новлен високий уровень изменчивости этого вида от Карадага до м. Айя. В шести исследуемых популяциях доля полиморфных локусов варьировала соответственно от 83,3% — 100%, а уровень наблюдаемой гетерозиготности составлял 31,8–45,9%.

З використанням 18 алозимних локусів досліджено популяційно-генетичне різноманіття *Juniperus excelsa* в межах ареалу у Гірському Криму. Встановлено високий рівень генетичної мінливості цього виду від Карадагу до м. Айя. В шести популяціях, що досліджувались, доля поліморфних локусів і наявна гетерозиготність варіювали відповідно 83,3–100% та 31,8–45,9%.

The population-genetic diversity of *Juniperus excelsa* was studied using 18 allozyme loci within the limits of its range in the Crimean Mountains. The high level of variability of this type was established shore from cape Aya to Karadag. Percentage of polymorphic loci ranged from 83.3% — 100%, and the observed heterozygosity was 31.8–45.9% in the six study populations

ОКСЬОМ В. П., ОКСЬОМ Л. Л.

Інститут фізіології рослин та генетики НАН України, Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: oksem_vova@ukr.net

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ІНДУКОВАНИХ МІКРОМУТАЦІЙ ПРИ ПОЛІПШЕННІ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ЗА ПОКАЗНИКАМИ ЯКОСТІ ЗЕРНА

В структурі харчування людини найбільша доля припадає на вуглеводи і білки, основну частину яких постачають злаки. Одним із головних культивованих злаків є пшениця, що на 90% представлена видом *Triticum aestivum* L. пшениця м'яка, щорічні валові збори якої в середньому складають близько 600 млн т [4]. Потреба в виробництві пшениці невинно зростає, і за різними прогнозами до 2020 року складе від 840 до 1050 мільйонів тонн зерна на рік [16, 18], що свідчить про те, що врожайність, зважаючи на існуючі на сьогодні валові збори в світі, за цей період необхідно підвищувати на 1,6–2,6% щорічно [3]. Особливо актуальним питання виробництва пшениці постає в Україні, де посівні площі озимої пшениці змінюються залежно від року в межах 4,5–7,6 млн га, що складає 38% всього зернового клину. Валові збори зерна в Україні складають майже половину валових зборів усіх зернових і використовується головним чином для випікання хліба. А тому, підвищення продуктивності та поліпшення якості зерна пшениці на сьогодні залишається дуже актуальною проблемою [7]. Вихід України на світовий ринок спонукає до виробництва конкурентоспроможного якісного зерна. Як відомо, вартість зерна і рентабельність виробництва значно залежать від його якості, тому при виробництві зерна, як на експорт так і для внутрішнього ринку, проблема якості стає домінуючою [11]. Для генетичного поліпшення сортів за комплексом ознак, пов'язаних з якістю зерна, необхідна розробка принципово нових методик. Поліпшення якості зерна

злаків, створення сортів пшениці з високими хлібопекарськими якостями є дуже важливим напрямком генетичних досліджень. Створення рослин злаків нового типу з генотипом, який би поєднував високу продуктивність та високу якість зерна, є пріоритетним і актуальним завданням генетичних досліджень. В цьому напрямку працюють вчені багатьох країн світу, розробляючи нові методи мутаційної селекції, наукові та практичні засади рекомбіногенезу. Високоєфективним є метод індукованого мутагенезу, який дозволяє одержувати мутації, в тому числі й господарсько-цінні, з частотою, що в десятки і сотні разів перевищує спонтанний рівень. Використання мутаційної селекції дозволяє отримувати нові форми рослин з рідкісними ознаками, цілеспрямовано поліпшувати сорти [6]. Світова практика свідчить, що більшість мутантних сортів створено при застосуванні близьких до критичних для рослин доз переважно фізичних мутагенів. Широкого впровадження набувають сорти-носії макромутаций, а про використання мікромутантів у виробництві є лише поодинокі повідомлення [15]. Як правило, при виникненні макромутаций значно порушується збалансованість генотипу і пристосованість рослини. В той же час мікромутатції майже не позначаються на життєздатності і адаптивному потенціалі організму. Ймовірність виникнення мікромутаций значно вища від інших типів мутацій [13].

Матеріал та методи

Польові і лабораторні дослідження проводились під керівництвом академіка НАН України Моргуна В.В. у відділі генетичного поліпшення рослин Інституту фізіології рослин і генетики НАН України та в умовах Дослідного сільськогосподарського виробництва ІФРГ (смт. Глеваха, Васильківського р-ну, Київської обл.). В поколіннях M_5 - M_{8-10} нами вивчено індуковані мутанти десяти сортів та ліній озимої м'якої пшениці різного еколого-географічного походження, а саме: Смоглянка, Експромт, Куяльник, Знахідка одеська, Єрмак, Донецька 6, Дріада 1, Magdalena, Дніпровська 277, Лютесценс 52497. Вивчені лінії мікромутантів поколінь M_5 - M_{8-10} індуковані при застосуванні фізичних мутагенів: гамма-промені в дозах 50, 100, 150, 200, 250 Гр, а також хімічних мутагенів: НЕС в концентраціях 0,005%, 0,01%, 0,025%, 0,03%, НМС в концентраціях 0,0025%, 0,005%, 0,01%, 0,0125%, ДАБ в концентраціях 0,05%, 0,1%, 0,2%, НМБ 0,01%, також застосовували комбінації мутагенів ДАБ 0,2% + НЕС 0,005% і гамма-промені 100 Гр + НЕС 0,005%. В якості модифікатора мутаційного процесу використовували гіберелінову кислоту в концентрації 1000 мг/л.

Оцінку мутантів за якістю зерна проводили в відповідності з прийнятими стандартами і методичними рекомендаціями по наступним показникам: вміст білка в зерні, вміст клейковини в зерні, показник SDS-30. Для більш досконалого аналізу з зерна кращих мікромутантів проводилась пробна хлібовипічка. Визначення вмісту білка і клейковини в зерні визначали експрес-методом на приладі Parten Inframatic 8600. [10]. Показник седиментації SDS-30 визначали згідно методик і рекомендацій розроблених

в СГІ УААН (м. Одеса) [9]. Основною характеристикою методу SDS-30 є висока кореляційна залежність показника (0,87–0,92) з міжнародно визнаними показниками хлібопекарської якості борошна пшениці — сила борошна (W) та індекс еластичності тіста (Ie). Аналіз мікрмутантів за показниками пов'язаними з хлібопекарськими властивостями проводили за загальноприйнятими методиками [8].

Результати і обговорення

Нами проаналізовано 282 мутантні лінії поколінь M_5 – M_{8-10} сортів озимої пшениці різного екологічного походження. В результаті виділено високоякісні, стійкі до несприятливих умов навколишнього середовища та продуктивні мікрмутанти, які за господарськими і морфологічними характеристиками повністю ідентичні вихідним сортам. Продуктивні мутанти забезпечували збільшення врожаю порівняно з вихідною формою на 5–10%. Багаторічний аналіз мікрмутантів різних сортів засвідчив генетичну обумовленість високої продуктивності виділених форм. В основному масиві вивчених мікрмутантів визначали показники вміст білка і сирої клейковини в зерні, показник седиментації. Літературні дані вказують на існуючі негативні кореляції між показниками якості і елементами продуктивності рослин, зокрема накопичені дані, що показують чітку зворотню кореляцію між цими показниками, тобто із збільшенням врожаю вміст білка в зерні знижується [1, 12], за даними В. М. Бебякина [2] продуктивна кущистість обернено зв'язана з вмістом білка ($r = -0,42$), ним же встановлено негативну генетичну кореляцію між кількістю білка в зерні та числом зерен ($r = -0,54 \dots -0,60$), тісний зв'язок маси 1000 зерен із білковістю, окремі автори [14, 17] вказують на негативну кореляцію вмісту білка з масою та об'ємом зернівок пшениці.

Незважаючи на насторожуючі літературні дані характерною рисою виділених господарсько-цінних мікрмутантів було те, що при збільшенні урожайності чи морозо- та зимостійкості, порівняно з вихідною формою, не спостерігалось достовірного зниження вище перелічених показників якості. У виділених мікрмутантів по продуктивності сорту Смоглянка вміст білка в зерні коливався межах 13,6–14,7% (у вихідної форми середній вміст білка 14,2%), вміст сирої клейковини — в межах 29,1–31,7% (30,5 у вихідної форми), показник седиментації — в межах 43–57 мл. (50 мл. у вихідної форми). В основному аналогічна ситуація спостерігалась і серед мікрмутантів індукованих на іншому вихідному матеріалі (сорті Експромт, Єрмак, Магдалена, Дніпровська 277, Донецька 6, Знахідка одеська, Дріада 1, Куяльник, лінія Лютесценс 52497). Лише в окремих випадках спостерігалось зниження показників якості при підвищенні продуктивності в порівнянні з вихідною формою. Зокрема у мікрмутанта Смоглянки УК 2929/09 спостерігали зниження показника седиментації до 43 мл., при 50 мл. у вихідної форми, а також в поодиноких мікрмутантів сорту Дніпровська 277 і лінії Лютесценс 52497 по показниках вміст білка і сирої клейковини в зерні.

За даними МАГАТЕ один макромутант моногенної дії з підвищеним вмістом білка або лізину (приблизно на 25%) трапляється в популяції із 100–500 тисяч зразків, а один мікрмутант полігенної дії з підвищеним вмістом білка або лізину (приблизно на 10%) трапляється в популяції із 1000–5000 зразків [5]. Тобто виділення мутантів по показникам за вмістом білка є досить рідкісним явищем. В нашому випадку проаналізовано значна вибірка індукованих мутантів, виділено зразки з підвищеними показниками, що характеризують якість зерна. Серед вивчених мікрмутантів достовірно перевищення за показником вміст білка в зерні мали лише: мікрмутант сорту Експромт 2928/09 індукований ДАБ в концентрації 0,05% (вміст білка в зерні 15,6%, при 14,1% у вихідного сорту), високий вміст білка в зерні якого поєднується з підвищеною врожайністю порівняно з вихідним сортом; а також мікрмутант сорту Куяльник 2967/09, вміст білка в зерні в якого поєднувався з підвищеною врожайністю і становив 15,0% при рівні білковості вихідного сорту 13,6%. За показником седиментації виділені мікрмутанти сорту Єрмак УК 2972/09 і УК 2973/09, індуковані гамма-променями в дозах 100 і 150 Гр, відповідно, які поряд з підвищеною продуктивністю достовірно перевищують вихідну форму за показником седиментації на 15 і 20 мл, відповідно. Також заслуговує на увагу мікрмутант УК 2988/09 сорту Дніпровська 277, індукований ДАБ в концентрації 0,2%, з показником седиментації вищим ніж у вихідної форми на 22 мл, при цьому мікрмутант зберігає врожайність на рівні вихідного сорту.

Для більш детального аналізу по показникам якості кращі з мікрмутантів сорту Смуглянка аналізувались по комплексу показників, пов'язаних з хлібопекарськими властивостями, проводилась пробна хлібовипічка. Мікрмутанти, що вивчались, мали вищу або на рівні порівняно з вихідною формою загальну хлібопекарську оцінку — 6,0–7,0 у мікрмутантів (у вихідного сорту 6,0). Вивчені мікрмутанти мали показник ВДК на рівні і вище від вихідної форми, лише мікрмутант УК 40/09 мав на 10 одиниць нижчий показник ВДК. Усі мікрмутанти крім мутанта УК 72/09 (індукованого гамма-променями в дозі 200 Гр) відрізнялись підвищеним показником пружності тіста в порівнянні з вихідною формою. Індекс еластичності тіста вивчених мікрмутантів знаходився в межах 1,5–3,3 (у вихідного сорту 1,8). За показником сила борошна мікрмутанти УК 42/09, УК 38/09 знаходились на рівні вихідного сорту, мікрмутант УК 72/09 значно нижче вихідного сорту, мікрмутанти УК 55/09, УК 57/09 і УК 40/09 значно переважали вихідний сорт. Водопоглинаюча здатність мікрмутантів знаходилась на одному рівні порівняно з вихідною формою. Чи не найголовнішою хлібопекарською характеристикою являється об'ємний вихід хліба. Всі з вивчених мікрмутантів сорту Смуглянка мали об'ємний вихід хліба на рівні і вище від вихідного сорту. Найвищий об'ємний вихід хліба з 100 г. борошна був у мікрмутанта УК 42/09 індукованого НМБ в концентрації 0,01% — 750 мл. і мікрмутанта УК 40/09 індукованого ДАБ в концентрації 0,05% —

700 мл. (у вихідного сорту 480 мл.). Вище названі мікромутанти характеризувались і найвищою хлібопекарською оцінкою — 7,0 балів.

Висновки

Таким чином, нами виділено мікромутанти з достовірно вищим вмістом білка в зерні порівняно з вихідними формами у сортів Експромт, Куяльник, Дніпровська 277, а також достовірно вищим показником седиментації у сортів Єрмак і Дніпровська 277. У виділених мікромутантів, як правило, ступінь прояву інших кількісних ознак, в тому числі й продуктивності, зберігався на рівні або перевищував показники вихідних сортів. Нами встановлено, що за допомогою індукування мікромутацій можна поліпшувати показники якості зерна, не втрачаючи при цьому потенціалу урожайності вихідного сорту. В результаті роботи виділено мікромутанти за показниками якості, але частота їх виникнення досить низька. Ефективними в індукуванні корисних мікромутацій є помірні та малі дози мутагенів. На нашу думку пошук мікромутацій по якості є досить складним, тому все ж таки, на початкових етапах, варто вести скринінг не високобілкових і високоякісних форм в порівнянні з вихідними сортами, а планомірно вести добір мікромутантів по продуктивності з обов'язковою умовою перевірки показників якості і відбирати лише ті форми, що не характеризуються втратою якісних характеристик в результаті мутацій. Таким чином буде збільшуватись продуктивність і вихід сирого протеїну з одиниці площі.

Література

1. Бебякин В. М. Адаптивность высокобелковых линий яровой мягкой пшеницы как исходного материала для селекции по накоплению и распределению азота в вегетативных органах и зерновках / В. М. Бебякин, И. Л. Тер-Асатурова, Д. Р. Каргалиев // Сельскохозяйственная биология. — 2001. — № 3. — С. 43–48.
2. Бебякин В. М. Теоретические предпосылки к повышению содержания белка в зерне / В. М. Бебякин // Селекция и семеноводство. — М., 1983. — № 4. — С. 13–15.
3. Денич С. Исследования в области селекции пшеницы / С. Денич, Б. Кобыльская // Материалы международного семинара: Современные тенденции в технологиях выращивания сельскохозяйственных культур. — Ялта. — 2006. — С. 101–113.
4. Жученко А. А. Ресурсный потенциал производства зерна в России (теория и практика) / А. А. Жученко. — М.: Агрорус, 2004. — 1112 с.
5. Моргун В. В. Мутационная селекция пшеницы / В. В. Моргун, В. Ф. Логвиненко. — К.: Наукова думка, 1995. — 627 с.
6. Моргун В. В. Спонтанна та індукована мутаційна мінливість і її використання в селекції рослин / В. В. Моргун // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. — К.: Логос, 2001. — Т. 2. — С. 144–174.
7. Моргун В. В. Фізіологічні основи отримання високих урожаїв пшениці / В. В. Моргун, В. В. Швартау, Д. А. Кірізій // Физиология и биохимия культурных растений. — 2008. — Т. 40, № 6. — С. 463–479.
8. Пшеница: история, морфология, биология, селекция / В. В. Шелепов, Н. П. Чебаков, В. А. Вергунов, В. С. Кочмарский. — Миронівка, 2009. — 580 с.

9. Рибалка О. І. Оцінка якості зерна пшениці на ранніх етапах селекції / О. І. Рибалка, М. В. Червоніс, М. А. Литвиненко // Вісник аграрної науки. — 2009. — № 1. — С. 44–48.

10. Техническая характеристика прибора Infrmatic 8600 series. http://www.perten.com/pages/ProductPage_124.aspx.

11. Червоніс М. В. Удосконалення системи методів визначення якості зерна озимої м'якої пшениці в процесі селекції: автореф. дис на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.01.05 «селекція рослин» / М. В. Червоніс. — Одеса, 2004. — 28 с.

12. Budak N. Heritability, correlation and genetic gains obtained in the populations of ege 88 and Kunduru durum wheat irradiated with gamma rays / N. Budak, M. B. Yildirin // Cereal Res. Commun. — 2002. — V. 30. — № 1–2. — P. 47–53.

13. Gaul H. Present aspects of induced mutations in a plant breeding / H. Gaul // Euphytica. — 1958. — V. 7. — P. 257–289.

14. Kaul A. K. Mutation breeding and crop protein improvement / A. K. Kaul // Nuclear techniques for seed protein improvement. — Vienna: IAEA, 1973. — P. 1.

15. Kharkwa M. C. The Role of Induced Mutations in World Food Security / M. C. Kharkwa, Q. Y. Shu // Induced Plant Mutations in the Genomics Era. Food and Agriculture Organization of the United Nations. — Rome, 2009. — 33–38.

16. Laghetti G., Perrino P., Cifarelli S., et al. Collecting plant genetic resources in Italy, 2001 // Plant Genet. Resour. Newslett. — 2003. — № 136. — С. 23–30.

17. Nagl K. Mutation breeding and crop protein improvement / K. Nagl // Nuclear techniques for seed protein improvement. — Vienna: IAEA, 1973. — P. 81.

18. Rosielle B. A. Estimate of selection parameters associated with harvest index in gat lines derived from a bulk population / B. A. Rosielle, K. J. Frey // Euphytica. — 1975. — V. 24. — P. 121–131.

Резюме

Встановлено, що за допомогою індукування мікромутацій можна поліпшувати показники якості зерна, не втрачаючи при цьому потенціалу урожайності вихідного сорту. Виділено мікромутанти за показниками якості, але частота їх виникнення досить низька. Показано, що ефективними в індуванні корисних мікромутацій є помірні та малі дози мутагенів.

Установлено, що з допомогою індуцирования мікромутацій можна удлучать показатели качества зерна, не теряя при этом потенциала урожайности исходного сорта. Выделены микромутанты по показателям качества, но частота их возникновения достаточно низкая. Показано, что эффективными в индуцировании полезных микромутааций есть умеренные и малые дозы мутагенов.

Found that using induction micromutations can improve quality of grain without losing the potential yield of the initial variety. Allocated mikromutanty in terms of quality, but their frequency is low enough. It is shown that effective in inducing useful micromutations is moderate and low doses of mutagens.

ПАРТОЕВ К., МЕЛИКОВ К., НАИМОВ А., КАРИМОВ И., АЛИЕВ К.

Институт ботаники, физиологии и генетики растений АН Республики Таджикистан, Таджикистан, 734027, Душанбе, ул. С. Айни, 299/2, e-mail: pkurbonali@mail.ru

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ В УСЛОВИЯХ ТАДЖИКИСТАНА

Картофелеводство является важной отраслью сельского хозяйства республики Таджикистан и дальнейшая интенсификация этой отрасли тесно связана с выведением новых перспективных сортов картофеля и организацией горного семеноводства. Таджикистан горная страна и агроэкологические условия горных районов республики на высоте 1800 метров над уровнем моря и более, позволяют в течение длительного времени поддерживать качество семенного и продовольственного картофеля на хорошем уровне [1–3]. В таких прохладных горных условиях растение картофеля мало подвергается поражению болезнями, там мало встречаются тли, основные переносчики вирусов картофеля. Сорта и гибриды картофеля в горных условиях хорошо цветут и формируют ягоды, поэтому эти факторы нами используются в наших селекционно-семеноводческих работах [4–5].

Для получения новых сортов картофеля научные сотрудники Института ботаники, физиологии и генетики растений Академии наук Республики Таджикистан с 2005 года проводят совместные научные работы со специалистами Международного Центра Картофеля, Перу (CIP — СИП) в условиях Таджикистана [6–8]. Эти исследования охватывают широкий круг научных вопросов, включающий коллекционное изучение селекционного материала, ускоренное размножение и оздоровление семенного материала на основе использования методов биотехнологии, проведение гибридизации и экологическое изучение новых сортов и гибридов картофеля в различных горных массивах. Особое внимание уделяется нами влиянию экологических факторов среды и почвенно-климатическим особенностям вертикальной зональности горных районов на урожайность и устойчивость к болезням сортов картофеля.

Материал и методы исследований

Материалом для исследований служили сорта картофеля, различного географического происхождения. В частности новые сорта картофеля, такие как Зарина, Дусты, Муминобод, Файзобод, Токикстон и Рашт получены в условиях Таджикистана, а сорта Винета, Эсприт, Эльфа, Белораз, Джелли и Романсе получены нами из Германии для изучения в условиях нашей республики. Стандартным сортом во всех экологических зонах служил сорт Кардинал. Сорта картофеля были изучены в таких экологических условиях горных районов республики, как Муминабад (1200 метров над уровнем моря), Таджикабад (1500), Шугнон (2000), Файзабад (2300) и Джиргаталь (2700).

Во всех этих районах клубни сортов картофеля были посажены в питомниках конкурсного сортоиспытания, рендомизированно в трехкратной повторности по схеме 60х20 см. Опытные делянки состояли из четырех рядков, длиной 5 метров, с общей площадью делянки 12 м². В каждой делянке было посажено по 100 шт. семенных клубней. По каждому сорту всего было посажено по 300 шт. семенных клубней диаметром 35–50 мм. Для выращивания сортов картофеля использовалась общепринятая технология в данной зоне по возделыванию картофеля. Клубни обычно высаживались весной в мае месяце, проводились две междурядные обработки, вносились необходимые дозы минеральных удобрений (NPK — 100+180+80/га), растения окучивались перед поливом, полив проводился 8–10 раз за вегетацию. Во время вегетации сортов проводили фенологические наблюдения за ростом и развитием растений картофеля. Учет урожайности проводили по делянкам опыта. Статистическую обработку цифровых данных осуществляли по Доспехову Б. А. (1979).

Результаты исследований

Исследования показали, что ряд сортов картофеля особенно не отличаются по урожайности от стандартного сорта картофеля Кардинал. Наряду с этим, некоторые новые сорта значительно превышают стандартный сорт по урожайности, что видно из данных таблицы.

Таблица

Урожайность сортов картофеля, т/га

№	Сорта картофеля	2009 г.	2010 г.	2011 г.	Среднее	Отклонение от стандарта, %
1	Кардинал (Стандарт)	23,93±1,2	24,6±1,4	25,0±1,3	24,5±1,2	100,0
2	Зарина (Таджикистан)	27,05±1,1	23,9±1,4	25,8±1,2	25,6±1,4	104,3
3	Муминобод (Таджикистан)	23,8±1,3	20,0±1,3	21,5±1,1	21,8±1,5	88,8
4	Файзобод (СИП и Таджикистан)	31,7±1,2	32,5±1,1	31,8±1,5	32,0±1,2	130,6
5	Дусти (СИП и Таджикистан)	31,7±1,4	27,9±1,2	29,6±1,3	29,8±1,5	121,5
6	Винета (Германия)	30,6±1,4	16,9±1,3	21,6±1,2	23,0±1,4	93,9
7	Эсприт (Германия)	30,3±1,3	20,3±1,4	22,3±1,4	24,3±1,3	99,1
8	Эльфа (Германия)	29,7±1,2	21,8±1,5	27,3±1,4	26,3±1,3	107,2
9	Белораза (Германия)	30,6±1,1	29,5±1,3	29,1±1,3	29,7±1,4	121,3
10	Джелли (Германия)	0,00	36,2±1,2	28,2±1,3	32,2±1,5	131,4
11	Романсе (Германия)	0,00	23,8±1,1	26,7±1,4	25,2±1,4	102,8
12	Токистон (СИП и Таджикистан)	0,00	0,00	33,2±1,5	33,2±1,5	135,5
13	Рашт (СИП и Таджикистан)	0,00	0,00	34,9±1,6	34,9±1,2	142,4
	Sx	1,00	1,60	1,2	1,3	
	V%=S/x*100%	10,9	21,6	14,5	15,1	
	НСП 05 = t05*Sx	2,30	3,68	2,76	2,99	

Из данных таблицы следует, что новые сорта картофеля, выведенные в условиях Таджикистана — Дуст и Файзобод (эти сорта в 2009 году были переданы в Государственную Комиссию по сортоиспытанию и охране сортов при Министерстве сельского хозяйства Республики Таджикистан для испытаний в разных районах республики, планируется их районировать в 2012 году), по урожайности в среднем за три года значительно превышали стандартный районированный сорт картофеля Кардинал (соответственно на 5,3 и 7,5 т/га или на 21,5 и 30,6%). Также по урожайности значительно превышали стандарт, сорта германской селекции — Белораза и Желли. Эти сорта соответственно превышали сорт Кардинал по урожайности на 5,2 и 7,7 т/га или на 21,3 и 31,4%.

Новые сорта картофеля Токистон и Рашт, выведенные в условиях Таджикистана и переданные в Государственную Комиссию по сортоиспытанию и охране сортов при Министерстве сельского хозяйства Республики Таджикистан для испытания в 2011 году, показали лучшие результаты по урожайности, чем другие сорта и сорт Кардинал. Эти два новых сорта картофеля соответственно превышали сорт Кардинал по урожайности на 8,7 и 10,4 т/га или на 35,5 % и 42,4 % (по результатам изучения их в 2011 году). Остальные сорта картофеля по урожайности существенно не отличались между собой и от стандартного сорта картофеля Кардинал.

Таким образом экологическое изучение сортов картофеля в разных районах нашей республики показало, что новые сорта картофеля Дуст, Файзобод, Токистон, Рашт (таджикской селекции) и Белораза, Желли (германской селекции) имеют существенное преимущество по урожайности во всех горных районах Таджикистана, по сравнению с районированным сортом картофеля Кардинал.

На урожайность растений также оказали влияние агротехнические мероприятия и местные условия возделывания сортов картофеля, что видно из рисунка.

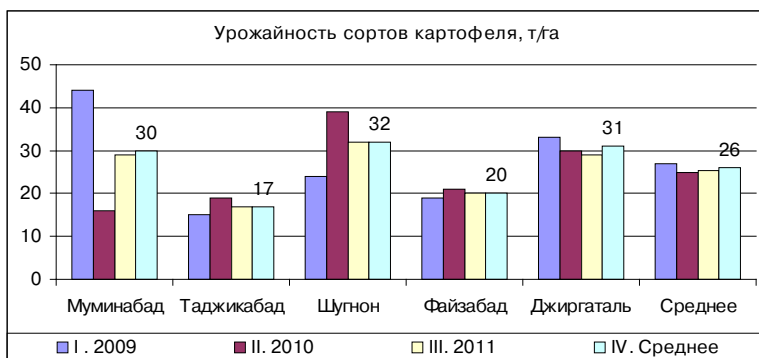


Рис. 1. Урожайность сортов картофеля в зависимости от года и местности

Как видно из рисунки, урожайность сортов картофеля в зависимости от местности и районов возделывания картофеля меняется по разному. Наиболее высокий урожай картофеля, в среднем, наблюдается в условиях районов Шугнон (в среднем за три года 32 т/га), Джиргаталя (31 т/га) и Муминабада (30 т/га). Сравнительно низкий урожай сортов был получен в условиях районов Таджикибада (в среднем за три года 17 т/га) и Файзабада (20 т/га). Урожайность сортов картофеля по годам особенно не отличается и находится в среднем в пределах 26 т/га.

Таким образом, урожайность сортов картофеля в большой степени зависит от агротехнических и экологических особенностей районов возделывания картофеля, чем от условий года.

Литература

1. Перлова Р. Л. Поведение видов картофеля в разных районах СССР. М.: Изд. во АН, СССР, 1958, 238 стр.
2. Лебедева Н. В. К вопросу горного семеноводства картофеля в северном Таджикистане. Бюллетень науч. техн. инф. — Душанбе: Ирфон, 1970. — № 8. — С. 47–50.
3. Салимов А. Ф. Биотехнологические основы получения качественного семенного материала картофеля в Таджикистане. Автореферат доктор. дисс. — Душанбе, 2007. — 258 с.
4. Алиев К., Партоев К. Использование методов селекции и биотехнологии в картофелеводстве Таджикистана. В книге: Физиология растений и проблемы развития растениеводства в Таджикистане. — Душанбе, 2011. — 27–30 с.
5. Партоев К., Нaimов С., Меликов К., Джумахмадов А. Клоновые отборы среди гибридов F_1 картофеля (*Solanum tuberosum* L.) в условиях Таджикистана. В книге: Факторы экспериментальной эволюции организмов. Сборник научных трудов, посвященных 120 летию Л. М. Делоне. — К.: Логос. — 2011, т. 10. — 500–504 с.
6. Partoev K., Naimov S., Melikov K., Jumahmadov A., Abdurahimov S. Brochure: Hybridization of potato in Tajikistan. — Dushanbe, 2010, 26 pages.
7. Carli C., D. Khalikov, F. Yuldashev, K. Partoev, K. Melikov, S. Naimov. Recent advances in potato research and development in Central Asia. Abstracts Global Potato Conference. — Delhi, 2008, 31–32 pages.
8. Gopal, J. Flowering behavior, male sterility and berry setting in tetraploid *Solanum tuberosum* germplasm. — Euphytica, 1994, 72:133–142 pages.
9. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М., Колос. — 1979. — 250 с.

Резюме

Thus ecological studying of varieties of potato in different areas of our republic has shown, that new varieties of potato Dusti, Faizobod, Tojikiston, Rasht (the Tajik selection) and Belloraza, Jelly (the German selection) have essential advantage on productivity in all mountain areas of Tajikistan, than the zoned variety of potato the Cardinal. The productivity of varieties of potato in the big degree to depend on agro technical and ecological feature of areas of cultivation of a potato, rather than from conditions of year.

ПАХОМЕЕВ О. В.

*Кыргызский Научно-исследовательский институт земледелия
Кыргызстан, 720027, г. Бишкек, ул. Т. Фрунзе, 73/1.
e-mail: o.pahomeev@yandex.ru*

АДАПТИВНЫЙ РЕКОМБИНОГЕНЕЗ В СЕЛЕКЦИИ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА ГОМЕОСТАЗ ДЛЯ УСЛОВИЙ БОГАРЫ КЫРГЫЗСТАНА

Создание сортов зерновых культур со стабильной реализацией своих потенциальных возможностей является актуальной задачей современной селекции. Дж. Ацци (1959) отмечал, что понятие урожай это результат взаимоотношений между продуктивностью и устойчивостью растений к неблагоприятным условиям среды.

Результаты селекции последних лет убедительно показали, что одной высокой потенциальной продуктивности сорта недостаточно. Чтобы получить ожидаемый эффект от посевов на высоких агрофонах, необходимо придать сорту важное свойство — стабильность получаемых урожаев в любых внешних условиях (Л. А. Беспалова, Ф. А. Колесников, Ю. М. Пучков и др., 2001; Р. А. Уразалиев, С. Аширбаева, А. И. Абугалиева, 2001; М. И. Ельников, М. М. Гридин, Н. А. Глухова и др., 2008).

Селекция пшеницы на гомеостаз позволяет в самом начале селекционного процесса отобрать формы, характеризующиеся высокой стабильной продуктивностью в различных экологических условиях. В. А. Драгавцев, Р. А. Цилке, Б. Г. Рейтер и др. (1984) отмечают, что свойства гомеостаза может быть оценено только при испытании в нескольких экологических точках, а подбор пар для скрещиваний необходимо вести с учетом донорских качеств родителей по гомеостазу. Наряду с гомеостазом, означающим тенденцию системы к сохранению постоянства и восстановлению его с помощью собственных регуляторных механизмов в случае нарушения. Следует учитывать степень гомеостатичности (буферность) отдельных признаков и реакций, варьирующих условиях внешней среды, а также способность системы давать стандартный фенотип (канализация) вопреки генетическим и экологическим нарушениям (А. А. Жученко, 1988).

Возможность повышения адаптивного потенциала озимой пшеницы на основе генетического механизма рекомбиногенеза отмечают многие исследователи. По мнению Н. И. Вавилова (1935) в вопросах селекции необходимо уделять большое внимание воздействию факторов среды на формирование генотипа. Ф. Бриггз и П. Ноулз (1972) подчеркивают, что хороший сорт получается при такой комбинации генов, которые обеспечивают удачное сочетание генотипа с окружающей средой. По мнению В. И. Ремесло, Ф. Г. Кириченко, В. Т. Дидусь, Л. А. Животкова, А. П. Орлюка, С. В. Рабинович (1978) важнейшим показателем создаваемых сортов для условий УССР является высокий и стабильный урожай.

В опытах академика Ф.Г. Кириченко (1981) гибриды, особенно первых поколений, были наиболее пластичны и легче поддавались изменениям, чем негибридные растения, т.е. гетерозиготные растения, проявляли большую буферность (гомеостаз), чем гомозиготные. В.Ф. Дорофеев и др. (1976) отмечают, что при скрещивании сортов дающих стабильные урожаи в различных условиях выращивания удастся легче отобрать и линии, обладающие таким ценным свойством. Они считают, что при подборе доноров для улучшения сортов по какому — то одному признаку, его стабильность в разных условиях среды будет являться важным свойством, так как в этом случае коэффициент наследуемости при гибридизации будет выше.

По мнению К.Г. Тетерятченко и др. (1981) эколого-географический принцип подбора пар дает возможность при простых скрещиваниях усилить потенциал отдельных количественных признаков, а также адаптационных генетических проявлений. Включение адаптированного гибридного материала в сложные скрещивание с местным селекционным ускоряет процесс выведения новых сортов, с комплексом положительных, хозяйственно ценных признаков и свойств.

Большое разнообразие почвенно-климатических условий и резко выраженная зональность определили два основных направления в селекции пшеницы в Кыргызстане: а) создание высокоинтенсивных сортов для орошаемого земледелия с урожайностью до 10 т/га; б) создание сортов, отвечающих условиям богарного земледелия, с урожайностью 3,5–5.0 т/га. Наиболее высокие урожаи (7–8 т/га) на богарных землях получают в предгорной зоне, где выпадает достаточное количество осадков (450–800 мм в год). В низинной зоне, с недостаточным увлажнением (200–350 мм в год) урожай не превышает 1,5–2,5 т/га, а засуха, проявляющаяся через каждые 2–3 года, часто сводит на нет все усилия хлеборобов. Получение высокого урожая в условиях богары возможно только с использованием засухоустойчивых, жаростойких сортов. В селекции на засухоустойчивость основным направлением является создание сортов, отличающихся интенсивным развитием в весенний период, что позволяет уходить от «запала» зерна, поскольку его налив закончится до наступления летней засухи (М.Г. Товстик, Р.Ф. Любавина, С.М. Ефименко, 1983).

Наиболее результативным методом селекции пшеницы является внутри видовая гибридизация эколого-географически отдаленных форм с последующим направленным отбором гибридных растений (П.П. Лукьяненко, 1972).

При создании засухоустойчивых сортов пшеницы в Киргизском НИИ земледелия подбор пар для гибридизации проводится с учетом их раннеспелости и формирования выполненного зерна. Иммунологический контроль сортов на инфекционном фоне позволяет выявить формы, устойчивые к основным вредоносным патогенам: бурой и желтой ржавчине, твердой и пыльной головне, мучнистой росе, бактериозу.

Оценка качества зерна проводится в лаборатории технологии по следующим показателям: содержание сырого белка и сырой клейковины (%), индекс клейковины, число падения (сек.), объем хлеба (мл), общая хлебопекарная оценка (балл).

Определение экологической пластичности сортов проводится согласно Методическим указаниям по экологическому сортоиспытанию зерновых культур (Н. И. Джелали, П. П. Литун, 1980). Питомники закладываются на обеспеченной (ЭХ Кырг. НИИЗ; 450–500 мм в год) и необеспеченной (ГСХ «Жаны Пахта»; 250–400 мм в год) осадками богаре, где в период налива зерна стоит очень жаркая погода, наблюдается очень низкая относительная влажность воздуха и часты суховеи. Посев производится по предшественнику «черный пар» (Р. Ф. Любавина, В. Н. Пшеничный, Д. К. Токоева, В. С. Ибрагимова, О. В. Пахомеев, 1993).

За последние годы выведены и допущены к использованию в условиях засушливой богары сорта Кырг. НИИЗ: Эритроспермум 760, Адыр, Кайрак и Ралюб. Проходит Государственное сортоиспытание новый сорт ЭХОЛ. Из старых сортов селекции Кырг. НИИЗ к использованию на богаре допущены Интенсивная, Эритроспермум 80 и Фрунзенская 60. В условиях богары также возделываются сорта отечественной селекции ОАО «МИС»: Азиброш, Зубков и Петр и сорта зарубежной селекции: Красноводопадская 210, Карасай, Арап, Жадыра, Майра, Наз, Нурике, Стекловидная 20, Южная 12 (Казастан) и сорт Безостая 1 (Россия). Следует отметить, что высокопластичный сорт озимой пшеницы Безостая 1, занимавший к 1970 году основные площади под этой культурой в Республике, сегодня возделывается как на орошаемых, так и на богарных землях.

Таблица

Характеристика допущенных к использованию сортов озимой мягкой пшеницы Кыргызского НИИ земледелия в условиях богары, 1998–2004 гг.

Сорт	Год испытания	Год допуска	Урожай зерна, т/га		Качество зерна, %	
			ЭХ	ГСХ	Белок	Клейковина
Фрунзенская 60, St	1998–2001	1982	5,2	2,5	13,0	26,0
Эритроспермум 760	1998–2001	1998	5,1	2,7	13,0	25,9
Адыр	1998–2001	2001	5,5	2,6	13,3	25,2
Кайрак	1998–2001	2004	6,1	2,9	13,9	27,6
Адыр, St	1999–2004	2001	5,8	2,5	13,5	26,0
Ралюб	1999–2004	2010	6,4	2,8	13,0	25,0

Сорта озимой мягкой пшеницы Кыргызского НИИ земледелия имеют комплексную устойчивость к основным болезням распространенным в Кыргызстане. А сорт Ралюб проявил высокий уровень толерантности во время сильной эпифитотии желтой ржавчины в 2002–2004 гг.

Таким образом, величина среднего урожая не всегда точно характеризует пригодность того или иного сорта к возделыванию в данных условиях.

Недостаточный уровень экологической стабильности сорта, даже при высоком уровне урожайности, в отдельные годы может нанести вред экономике хозяйства. Селекция озимой пшеницы на гомеостаз является перспективным направлением для условий богары Кыргызстана.

Литература

1. *Ацци Дж.* Сельскохозяйственная экология. — М.: Издат. Иностран. литературы. — 1959. — 480 с.
2. *Беспалова Л. А., Колесников Ф. А., Пучков Ю. М., Тимофеев В. Б., Фоменко Н. П., Кудряшов И. Н., Костин В. В., Набоков Г. Д.* Достижения отдела селекции и семеноводства пшеницы и тритикале к 100-летию академика П. П. Лукьяненко. В кн. Пшеница и тритикале. — Краснодар: Советская Кубань. — 2001. — С. 13–27.
3. *Уразалиев Р. А., Аширбаева С., Абугалиева А. И.* Озимая твердая пшеница: качество зерна, урожайность и стабильность их формирования. В кн. Пшеница и тритикале. — Краснодар: Советская Кубань. — 2001. — С. 293–298.
4. *Ельников М. И., Гридин М. М., Глухова Н. А., Звягин А. Ф.* Стан та перспективи розвитку селекції озимі пшениці з підвищеним рівнем адаптивності та якості в Ліссостепу України. Науково — Технічний бюлетень Міронівського інституту пшениці імені В. М. Ремесла. — Вип. 8. — К. — 2008. — С. 155–164.
5. *Драгавцев В. А., Цилке Р. А., Рейтер Б. Г. и др.* Генетика признаков продуктивности яровых пшениц в Западной Сибири. — Новосибирск: Наука. — 1984. — 231 с.
6. *Жученко А. А.* Адаптивный потенциал культурных растений. — Кишинев: Штиинца. — 1988. — С. 35.
7. *Вавилов Н. И.* Научные основы селекции пшеницы. — Л.-М.: Сельхозгиз (Ленингр. отд.). — 1935. — 244 с.
8. *Бриггс Ф., Ноулз П.* Научные основы селекции растений. — М.: Колос. — 1972. — 399 с.
9. *Ремесло В. Н., Кириченко Ф. Г., Дидусь В. И., Животков Л. А., Орлюк А. П., Рабинович С. В.* В кн.: Селекция и семеноводство зерновых культур. — К.: Урожай. — 1978. — С. 12–39.
10. *Кириченко Ф. Г., Нефёдов А. В., Литвиненко Н. А., и др.* Основные направления, методы и результаты селекции озимой пшеницы на юге СССР. Тез. доклада IV съезда генетиков и селекционеров Украины. — К.: Наукова думка. — 1981. — С. 28–30.
11. *Дорофеев В. Ф., Новикова М. В.* Мировые сортовые ресурсы озимой пшеницы и их использование в селекции. В кн.: Селекция и сортовая агротехника озимой пшеницы. — М.: Колос. — 1979. — С. 19–29.
12. *Тетерятченко К. Г., Коваленко А. М., Пахомеев О. В., Миненкова Г. А.* Анатомический метод в селекции мягкой озимой пшеницы при использовании эколого-географического принципа подбора пар при скрещиваниях. Тез. доклада IV съезда генетиков и селекционеров Украины. — Киев: Наукова думка. — 1981. — Ч. 3. — С. 56–58.
13. *Товстик М. Г., Любавина, Р. Ф., Ефименко, С. М.* Новые сорта пшеницы Киргизии. — Фрунзе: Кыргызстан. — 1983. — 45 с.
14. *Лукьяненко П. П.* Достижения и перспективы в селекции озимой пшеницы. Тез. доклада II съезда ВОГиС им. Н. И. Вавилова. — М.: Наука. — 1972. — С. 19–22.

15. Методические указания по экологическому сортоиспытанию зерновых культур. — М.: Тип. ВАСХНИЛ. — 1980. — 35 с.

16. Любавина Р.Ф., Пшеничный В. Н., Токоева Д. К., Ибрагимова В. С., Пахомев О. В. Селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур в Кыргызстане. Научн. труды, вып. XXIX. — Бишкек: М. П. Табылгаю. — 1993. — 29–38 с.

Резюме

На основе собственных исследований и обобщения работ других авторов излагаются принципы адаптивной селекции озимой пшеницы для условий богары Кыргызстана.

На підставі самостійних досліджень і аналізу досліджень інших авторів охарактеризована перспектива розвитку адаптивної селекції озимої пшениці для посушливих зон Киргизстану.

On the basis of own researcher and generalization of works of other authors are states principles of adaptive breeding of winter wheat for rainfed conditions Kyrgyzstan.

СКОРИК В. В.

*Носівська селекційно-дослідна станція,
с. Дослідне, Носівського р-ну, Чернігівської обл.
E-mail: nosiv_sds@meta.ua*

ГНОМ 3 — ДОНОР СУПЕРКОРОТКОСТЕБЛОВОСТІ ЖИТА ОЗИМОГО (*SECALE CEREALE* L.)

Прогнозувати селекційну цінність вихідної батьківської форми можна лише коли відомі її генетичні особливості. Необхідна система вивчення вихідного матеріалу для селекції, яка б створила умови для прояву генотипового потенціалу виду. Це дасть можливість свідомо залучати до селекційного використання гени, які мають найбільш важливе значення в розвитку бажаної ознаки. Динамічне залучення в селекційний процес нового вихідного матеріалу — одна з умов прогресивної селекції. Особливе значення має виділення і використання генетичних донорів, які забезпечують стратегічний розвиток актуальних напрямків селекції жита на короткостебловість, крупність, якість зерна, імунітет, толерантність до враження грибовими хворобами. Селекціонери обмежені жорсткими вимогами ринку, і їм потрібний вихідний матеріал, який би створював можливість отримувати бажані результати з найменшими витратами часу, праці і ресурсів. На основі донора домінантної короткостебловості (ННН1) створено понад три десятки сортів жита. При висоті стебла менше 120 см такі сорти здатні утворювати врожай зерна до 7–8 т/га. Для створення сортів, гетерозисних синтетиків і гібридів з урожайністю більше 10 т/га необхідні більш стійкі до вилягання короткостеблові донори жита озимого.

Матеріали і методи

З 1974 р. на Носівській селекційно-дослідній станції проводиться спрямоване зменшення висоти рослин жита озимого за схемою добору на висо-

кий і низький вміст білка в зерні кукурудзи на Іллінойській станції започаткованого Хопкінсом у 1896 р [1]. Інтенсивність добору визначалася селекційним диференціалом, $S_d = \bar{X}_0 - \bar{X}_1$ при негативній селекції по висоті рослин жита, обумовленої домінантним геном короткостебловості НІ. Загальне рівняння ефективності добору з урахуванням коефіцієнта успадкованості у вузькому розумінні визначалося, як $R = h^2 S_d$. Коректність алгоритму проведена з дотриманням обмежень передбачених подібністю між батьками і нащадками обумовленими причинами спадкового характеру, фенотипові значення висоти рослин корелятивно не пов'язані з життєздатністю і фертильністю, в межах популяції дотримувалися умови панміксії [2, 3]. У кожному циклі спрямованих доборів визначалися генетико-статистичні параметри батьків і нащадків за ознаками висоти рослин, продуктивності кушестості, довжини колоса, числа квіток і зерен у колосі, озерненості колоса, щільності колоса, маси зерна з колоса, маси зерна з рослини, маси 100 зерен з рослини і числа зародкових корінців. Спорідненість варіювання ознак визначалася за коефіцієнтом кореляції. Кореляції між ознаками в одному поколінні визначалися як фенотипові (r_p), між батьками і нащадками — як генотипові адитивні кореляції (r_A). Визначення загальної генотипової кореляції (r_G) проводилося за формулою Хейзеля [3]. Для проведення комплексної оцінки кореляцій між середніми висоти рослин за 38 років спрямованих доборів використовувався метод кореляційних плеяд або кластерів [4]. Спрямованим рекурентним добором найкороткостебловіших рослин за 38 генерацій створено новий донор суперкороткостебловості Гном 3.

Результати та обговорення

На рис. 1 наведена динаміка зниження висоти жита озимого F_3 к-10028 /Саратовське 4 з 1974 по 2011 рр. у результаті спрямованих доборів найбільш короткостеблових рослин. Сформована в першому циклі селекції популяція використана вихідним матеріалом для наступних доборів, де з кожним циклом збільшувалася концентрація рослин з бажаним проявом генів короткостебловості. В генерації F_8 після п'яти циклів добору найкороткостебловіших рослин ще з'являлися окремі високостеблові генотипи, які видалялися з ділянки перед квітуванням. Видаляли повністю сім'ї, в яких вищиплювалася хоча б одна рослина з генотипом hlhl. Панміктичне пере запилення відбувалося виключно в межах константних нащадків (сімей) за фенотиповим проявом ознаки короткостебловості. В популяції залишилися виключно рослини з генотипом ННІ.

За 38 років селекції найкороткостебловіших генотипів популяції F_3 к-10028 /Саратовське 4 висота рослин з 119,33 см у 1974 р. зменшилася до 22,36 см у 2011 р, що в абсолютному значенні становить 96,97 см. Спрямованим рекурентним добором у мінус напрямку за 38 циклів удалося в 5,34 рази зменшити висоту стебла жита озимого на фоні прояву домінантного гена короткостебловості НІ. Висота при доборі найкороткостебловіших рослин у популяції щорічно в середньому зменшувалася на 2,64 см, але проходило це

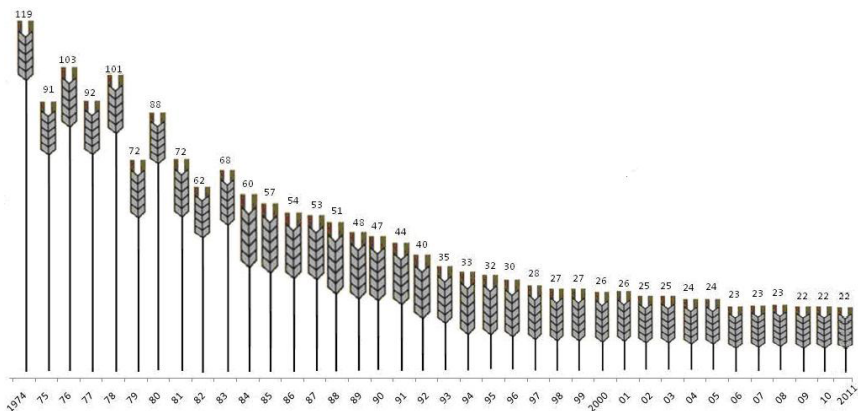


Рис. 1. Динаміка зниження висоти рослин жита озимого F₃ к-10028/Саратовське 4 з 1974 по 2011 рр. Вверху — висота рослин, см; внизу — роки досліджень

нерівномірно. У третьому, п'ятому, сьомому і десятому поколіннях спрямованого негативного добору найкороткостебловіших рослин спостерігалися риверсії середньої висоти рослин у протилежному напрямку відносно попереднього циклу. Після десятого покоління зниження середньої висоти рослин набуло урівноваженого характеру. Протягом тривалої в часі спрямованої селекції відбулася генетична дивергенція висоти рослин, у результаті чого варіаційні ряди штучно створеної субпопуляції і вихідної контрольної популяції, де такого спрямованого добору не проводилося, абсолютно не перекриваються між собою. Напевно, що число локусів гена НІ у вихідній популяції F₃ к-10028/Саратовське 4 було представлено не одним алелем. Завдяки генетичній мінливості відбувалася поступова заміна одних алелів за рахунок інших під дією тиску добору. В генофонд наступного покоління вносили вклад лише особини, які були у попередньому поколінні батьками. Обумовлені зміни частот алелів, які відбувалися за одне покоління не завжди істотні, однак накопичуючись протягом низки поколінь, вони стали значними. Добір призвів до того, що один з алелів став фіксованим, а решта альтернативних алелів еліміновані добром з субпопуляції. Проявився дрейф генів, при якому з обмеженого числа родоначальних особин виникла нова субпопуляція. Чисельність вихідних батьківських рослин у субпопуляції була обмеженою і пройшла період «пляшкової шийки» [1,2], в результаті в ній істотно змінилися частоти генів, і ці зміни зберігаються протягом послідовних поколінь. Спрямованим добром за період 1974–2011 рр. створено новий донор домінантної суперкороткостебловості жита озимого Гном 3 з символікою НІЗНІЗ. Зниження висоти стебла в популяції відбувалося під тиском інтенсивного штучного добору використанням генів з проявом адитивного ефекту.

Багаторазовий спрямований добір призвів до появи раніше не відомих суперкороткостеблових форм жита озимого, в яких зустрічаються фертильні рослини з висотою 7–15 см. Подальший добір у напрямку зменшення висоти рослин жита озимого на цьому етапі селекційного використання вважаємо недоцільним. У рослин донора Гном 3 відбулося істотне збільшення продуктивної кущистості, вкорочення кожного з п'яти міжвузолів, при цьому приблизно четверта частина колосу весняного утворення не повністю встигає виходити з піхви листа до початку квітання. Цитологічні дослідження чисельності і морфології хромосом у анафазі другого мейотичного поділу чоловічого гаметофіту таких рослин не виявили помітного збільшення аномалій, порівняно з контрольною популяцією. В суперкороткостеблових рослин істотно змінилася архітектоніка будови стебла, листа, і розвитку кореневої системи. Листова пластинка жита Гном 3 стала значно коротшою за довжиною. Кут відходження листа від стебла став гострим ($12\text{--}15^\circ$). Багаторічне спрямоване селекційне скорочення стебла обумовило значні зміни форми будови куща жита. Гном 3 восени формує невелику чисельність стебел (2–3), через істотно меншу кількість зародкових корінців ($P < 0,001$). Весною Гном 3 інтенсивно відновлює вегетацію утворює розгалужені вторинні корені, формує розлогий кущ, а, починаючи з фази виходу рослин у трубку, стебла і листки стрімко набувають вертикальної орієнтації. Така архітектоніка будови асиміляційного апарату рослин жита вважається оптимальною для створення сортів, синтетиків і гібридів з високим фотосинтетичним потенціалом. Розлога форма куща, стебла і листової пластинки на початкових стадіях онтогенезу успішно сприяє пригніченню бур'янів. Особливості кушення, розвитку стебла і листа жита Гном 3 при схрещуванні передаються нащадкам по домінантному типу.

У багаторічному досліді на зменшення висоти рослин жита кожного року обчислювалися коефіцієнти успадковування, селекційні диференціали, прогнозовані (теоретичні) результати добору (R_T). За фактичними результатами добору (R_F) визначалися реалізовані коефіцієнти успадковування і порівнювалися між собою за коефіцієнтами кореляції. Середній селекційний диференціал за всі роки досліджень дорівнював 7,58 см, а фактичний результат добору становив 2,73 см за одне покоління. Селекційний диференціал належить до числа найбільш важливих параметрів результативності добору, встановлено його вплив на реалізовану ефективність при зменшенні висоти рослин жита озимого. За 38 років кореляція між величиною селекційного диференціалу (S_d) і ефективністю добору (R_F) становила $0,6165^{***}$. Результат добору на 38% обумовлений величиною застосовуваного селекційного диференціалу в попередньому поколінні при зменшенні висоти рослин. Кореляція між обчисленим коефіцієнтом успадковування (h^2) у минулому і фактичним результатом добору (R_F) в поточному році дорівнювала $0,3816^*$. Ефективність селекції на 15% обумовлена величиною коефіцієнта успадковування в вузькому розумінні. Результативність селек-

ції, в нашому випадку, більш істотно залежала від інтенсивності добору, ніж від успадковування висоти рослин. Прогнозований (R_T) і фактичний (R_F) результати добору між собою проявили пряму кореляцію ($r = 0,8490^{***}$). Прогнозована результативність добору на зниження висоти рослин жита озимого у 72% випадків відповідала реалізованій ефективності селекції. За генетико-статистичними параметрами успадковування у вузькому розумінні і величиною селекційного диференціалу при зниженні висоти рослин жита озимого прогнозування ефективності селекції дає позитивний результат, який використовується в практичній селекційній роботі.

Література

1. Айала Ф. Современная генетика. В трёх томах // Ф. Айала, Дж. Кайгер / М., «Мир». — 1987. — С. 812.
2. Хедрик Ф. Генетика популяций // М.: Техносфера. — 2003. — С. 563.
3. Рокицкий П. Ф. Введение в статистическую генетику // Минск, Высшая школа. — 1974. — С. 369.
4. Falconer D. S. Introduction to quantitative genetics // D. S. Falconer / Oliver and Boyd. London and Edinburgh. — 1960. — P. 315.
5. Барон О. И. Кластерный анализ и его применение (Методы, меры сходства и свойства кластеров) // О. И. Барон, Ю. А. Григорьев, И. Ф. Мингазов / [www. ni kprg.ru/konf.doc/doc8.doc](http://www.ni.kprg.ru/konf.doc/doc8.doc).

Резюме

Створено новий донор суперкороткостебловості Гном 3 з середньою висотою рослин 22–25 см. Запропонована символіка домінантних алелів гена суперкороткостебловості в гомозиготному стані H13H13. Прогнозована результативність добору на зниження висоти рослин жита озимого у 72% випадків відповідала реалізованій ефективності селекції. Визначено генетичну концепцію використання нового донора в практичній селекції.

Создан новый донор суперкороткостебельности Гном 3 с высотой растений 22–25 см. Предложена символика доминантных алелей гена суперкороткостебельности в гомозиготном состоянии H13H13. Прогнозированная результативность отбора на снижение высоты растений ржи в 72% случаев совпадала с реализованной эффективностью селекции. Предложена генетическая концепция использования нового донора в практической селекции.

A new donor short-stalk Gnom 3 with average altitude of plants 22–25 sm are created. The symbols dominants allele genes super short-stalk at homozygous condition H13H13 are proposed. The projectioned effective by selection for reduce altitude plants winter rye of 72% incidents correspond to the implemented efficiency of breeding. The genetically conception for employment new donor by practical breeding are defined.

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В СОРТОИЗУЧЕНИИ И СЕЛЕКЦИИ ПЕРСИКА НА ЮГЕ УКРАИНЫ

Персик обыкновенный (*Persica vulgaris* Mill.) является основной промышленной косточковой культурой на юге Украины. В АР Крым он занимает площадь 6,3 тыс. га, что составляет 50,8 % от общей площади косточковых культур. Персик отличается высокими товарными качествами плодов, имеет широкий диапазон созревания и пользуется большим спросом на рынке. Но в существующем сорimente этой культуры мало раннеспелых сортов, особенно с желтой мякотью. Необходимо повысить устойчивость сортов к неблагоприятным абиотическим и биотическим факторам внешней среды и улучшить товарные качества плодов. В связи с этим целью исследований являлась разработка теоретических основ совершенствования методов сортоизучения и селекции персика, как базы по оптимизации селекционного процесса и выведения новых сортов для промышленного садоводства юга Украины.

Материалы и методы

Основой для селекционной работы являлся генофонд персика, который представлен сортами и формами отечественной и зарубежной селекции. Для комплексной оценки сортов весь генофонд был систематизирован по эколого-географическим группам и экотипам с определением частоты встречаемости хозяйственно ценных признаков в каждой группе и экотипе. Оценка сортов и форм на коллекционных участках выполняли по методике ГНБС [7], по «Программе и методике сортоизучения плодовых и орехоплодных культур» [5, 6]. Селекционные исследования проводили в соответствии с «Программой и методикой селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур» [3, 4] и «Методическим рекомендациям по селекции персика, разработанных в ГНБС» (Москва, 1990; Ялта, 1999).

Результаты и обсуждение

В результате исследований были выявлены эколого-географические группы, экотипы и сорта с высокой степенью цветения (северокитайская эколого-географическая группа, европейский экотип северокитайской группы, 16 сортов), с поздним сроком цветения (северокитайская группа, европейский экотип северокитайской группы, 17 сортов), продолжительным цветением (иранская группа, американский экотип иранской группы, 22 сорта), скороплодные (иранская группа, европейский экотип иранской группы, 60 сортов), урожайные (северокитайская группа, закавказский экотип иранской группы, 14 сортов), с плодами раннего срока созревания (иранская группа, американский экотип иранской группы, 60 сортов), позднего срока созревания (северокитайская группа, закавказский экотип североки-

тайской группы, 6 сортов), высоких товарных качеств (иранская группа, европейский экотип иранской группы, 111 сортов), с повышенной адаптивностью к морозам (северокитайская группа, европейский экотип северокитайской группы, 14 сортов), засухе (иранская группа, среднеазиатский экотип северокитайской группы, 32 сорта), к курчавости листьев (северокитайская группа, среднеазиатский экотип северокитайской группы, 4 сорта), к мучнистой росе (северокитайская группа, китайский экотип северокитайской группы, 10 сортов).

Для сравнения лучших сортов, выделенных в коллекции, с «модельным» сортом по комплексу 15 признаков был предложен кластерный метод анализа, на основе которого было выделено восемь сортов: Гагаринский, Дружба Народов, Муза, Кремлевский, Краса Кавказа, Earlyred, Harbell, Redhaven.

У персика для определения взаимосвязи между хозяйственно ценными признаками на основании изучения 110 сортов провели регрессионный и корреляционный анализ по 15 показателям и выявили различную степень их взаимосвязи.

Наибольший коэффициент корреляции отмечали между качеством плодов — внешним видом (0,9) и вкусом плодов (0,83); сроком созревания — массой (0,5) и процентом покровной окраски плода (-0,6); сроком и продолжительностью цветения (-0,66); внешним видом и вкусом плодов (0,55) и др.

Селекционные исследования были направлены на выведение новых сортов с низкой поражаемостью мучнистой росой, курчавостью листьев, с ранними и поздними сроками созревания плодов высоких товарных качеств, с повышенной устойчивостью к морозам и заморозкам. Всего в результате гибридизации было проведено 380 комбинаций скрещиваний.

Большинство комбинаций с высоким процентом формирования семян наблюдали в скрещиваниях на раннеспелость с участием материнских сортов среднего срока созревания.

Наибольшее количество высокосамоплодных и самоплодных сортов принадлежали к иранской эколого-географической группе, американскому экотипу. В группе высокосамоплодных отмечено 13 сортов, среди самоплодных — 18 сортов.

По результатам гибридологического анализа выявлены сорта и формы — доноры качественных признаков: 14 доноров округлой формы, 19 — волокнистой консистенции мякоти, 3 — белой окраски мякоти, 11 — нежной плотности мякоти, 2 — отделяемости косточки от мякоти и качественных признаков: 2 донора раннего срока созревания, 4 — среднего, 7 — средней и крупной массы плодов, 8 — улучшенной окраски, 5 — хорошего вкуса плодов, 9 — высокой урожайности, 10 — низкой поражаемости курчавостью листьев, 3 — мучнистой росой, 2 — комплексных донора низкой поражаемости болезнями.

В результате изучения генофонда семян по качеству плодов выделено 47 форм (большинство из них (68,8%) было получено в результате скрещивания сортов, принадлежащих к различным эколого-географическим группам и экотипам), по урожайности — 32, по низкой поражаемости курчавостью листьев — 36, мучнистой росой — 38.

В проведенных исследованиях определены радиочувствительность и фертильность гамма-облученной пыльцы у 23 сортов персика, использованных в селекционных программах.

Выявлены оптимальные дозы и спектр изменчивости растений после воздействия на семена гамма-радиацией в сочетании с ростовыми веществами «Фумар», ИМК и на вегетативные почки химическими мутагенами ЭИ, НЭМ, НММ в сочетании с гамма-радиацией и этими ростовыми веществами.

В результате радиационного мутагенеза было выделено 49 перспективных форм, которые оценивали по комплексу хозяйственно ценных признаков.

Из них по морозостойкости цветковых почек отмечено 13 радиоформ, по засухоустойчивости — 11, с комплексным повышением в плодах биологически ценных веществ — 8 форм.

В результате дифференциальной окраски хромосом у гамма-облученных форм персика сорта Советский, особенно в дозе 50 Гр, отмечали различия по соотношению гетеро- и эухроматиновых блоков, изменение площади, суммарной оптической плотности клеточного ядра, появление клеток с микроядрами, мостами и полиплоидным набором хромосом.

По итогам изучения генофонда, подбора исходных сортов и форм для гибридизации, оценки селекционного материала, экономической эффективности новых сортов было отобрано по комплексу показателей 28 новых сортов персика.

Выводы

Таким образом, комплексное изучение генофонда персика на основе распределения сортов по эколого-географическим группам и экотипам, определение у них частоты встречаемости ценных признаков, критериев «модельного» сорта, регрессионной и корреляционной взаимосвязи признаков, выделение источников и доноров хозяйственно ценных свойств, включение их в комбинации скрещиваний по принципу отдаленного происхождения, применение методов радиационного и химического мутагенеза позволило оптимизировать селекционный процесс и повысить его эффективность. На этой основе выделено 235 перспективных семян, 113 элитных форм, зарегистрировано в Госсортслужбе Украины 12 новых сортов персика и 16 — включены в Реестр сортов Украины.

Литература

1. Интесификация селекции плодовых культур / Под ред. В.К. Смыкова, А.И. Лищука. — Ялта, 1999. — 216 с.

2. Методические рекомендации по селекции персика/под ред. В.К. Смыкова. — Москва, 1990. — 51 с.

3. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур/научн. ред. Г.А. Лобанов. — Мичуринск, 1980. — 529 с.

4. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур/научн. ред. Е.Н. Седов, Т.П. Огольцова. — Орел, 1999. — 606 с

5. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур/научн. ред. Г.А. Лобанов. — Мичуринск, 1973. — 494 с.

6. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Научн. ред. Е.Н. Седов. — Орел, 1995. — 499 с.

7. Рябов И.Н. Сортоизучение и первичное сортоиспытание косточковых плодовых культур в Государственном Никитском ботаническом саду / И.Н. Рябов // Сортоизучение косточковых плодовых культур на юге СССР: сб. науч. работ. — М.: Колос, 1969. — Т. 41. — С. 5–83.

Резюме

В статье представлены результаты исследований по оценке генофонда, определению взаимосвязи признаков и селекции персика.

The results of studies on the genofund, the definition of the relationship characteristics and selection of peach has been given in the article.

У статті представлені результати досліджень з оцінки генофонду, визначенню взаємозв'язку ознак і селекції персика.

**ТЕРНОВСЬКА Т.К., ЄФІМЕНКО Т.С., АНТОНЮК М.З.,
МАРТИНЕНКО В.С.**

*Національний університет «Києво-Могилянська Академія» МОН України,
Україна, 04070, Київ, вул. Г. Сковороди, 2, e-mail: tern@ukma.kiev.ua*

ГЕНЕТИЧНИЙ КОНТРОЛЬ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК КОЛОСУ В ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЯХ ПШЕНИЦІ

Вивчення генетичного контролю морфологічних ознак пшениці має фундаментальне значення, оскільки відкриває доступ до молекулярно-генетичного вивчення взаємодії між регуляторними та структурними генами. Вони можуть використовуватися також як маркери для інших ознак, цінних з позицій селекції. Ознаки морфології можуть бути безпосередньо пов'язаними з кращою пристосованістю рослин до несприятливих умов довкілля. Досліджувані нами ознаки, опушення та забарвлення колоскової луски, можуть мати позитивний зв'язок з адаптованістю рослин пшениці до зростання в районах з високою інтенсивністю світла, коротким вегетаційним періодом та низькими температурами під час вегетаційного періоду [1]. Існують дані про зв'язок опушення луски пшениці з її стійкістю до борошнистої роси (*Erysiphe graminis*) [2] та індійської сажки (*Tillieria indica*) [3]. Є повідомлення, що з темним забарвленням луски у злаків може бути пов'язана стійкість до певних хвороб. Необхідність дослідження саме інтрогрованих генів викликана збідним генетичним пулом сортів м'якої

пшениці за генами морфологічних ознак. В нашому дослідженні використовувалися лінії пшениці, що містять чужинний генетичний матеріал різного обсягу від дикорослих диплоїдних родичів пшениці з роду *Aegilops*, для встановлення генетичного контролю забарвлення та опушення колоскової луски.

Матеріал та методика

Досліджували 22 інтрогресивні лінії — похідні Авродесу (AABBSS), геном S диплоїдного виду *Aegilops speltoides*, Аврозису (AABBS^{sh}S^{sh}), геном S^{sh} від *Ae. sharonensis*; Авролати (AABBUU), геном U від *Ae. umbellulata*, гібриди F₁ та F₂ від 13 комбінацій схрещування різних ліній одна з однією та з рекурентним генотипом м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L. AABBDD) Аврора.

Градації оцінки кольору зрілого колосу: 1 — червоний, 2 — світло-коричневий, 3 — темно-коричневий, 4 — чорний. Градації оцінки опушення: 1 — луска не опушена, 2 — опушення густе суцільне по всій лусці, 3 — опушення густе, найбільш опукла частина луски опушення позбавлена опушення (нерівномірне опушення), 4 — опушення рідке, рівномірне розподілене по всій лусці, 5 — опушення рідке, розподілене по лусці нерівномірно, як у градації 3, 6 — опушення щетинчасте, суцільне по всій лусці, 7 — опушення щетинчасте, нерівномірне як у градації 3. Відповідність емпіричного розподілу рослин за фенотипними класами теоретичному перевіряли критерієм χ^2 . Для екстракції ДНК застосовували стандартну СТАВ методику виділення ДНК із паростків. Полімеразну ланцюгову реакцію проводили згідно умов, вказаних оригінаторами праймерів до мікросателітних локусів. Електрофорез продуктів ампліфікації проводили у вертикальному 6% поліакриламідному гелі у денатуруючих умовах. Виявляли фрагменти ДНК у гелях за допомогою нітрату срібла. Електрофорез гліадинів виконували за модифікованою методикою Бжезинського. Кількість хромосом визначали на тимчасових чавлених препаратах первинних корінців паростків.

Результати та обговорення

Забарвлення зрілої луски рослин F₁ у всіх комбінаціях схрещування було темнішим, ніж у лінії з більш світлим забарвленням, та світлішим, ніж у лінії з більш темним забарвленням. Отже, алель темного забарвлення луски не домінує повністю над алелем червоного забарвлення. Градації «2» та «3» — різного ступеню насиченості коричневого кольору зі всіма проміжними відтінками. Класифікація рослини за цими градаціями обов'язково супроводжується помилками щодо відповідності фенотип-генотип. Розщеплення у комбінації 1 (табл. 1) відповідає моногенному ($\chi^2=0,09$), а у комбінації 2 — ні ($\chi^2=14,48$). Спостерігається надлишок рослин із світлим забарвленням луски. Це пояснюється тим, що ген темного забарвлення луски входить до складу геному лінії *ges217* як частина чужинної хромосоми, що в мейозі гібридів F₁ не кон'югує з гомеологічною хромосомою пшени-

Таблиця 1

Розщеплення рослин F₂ за ознакою забарвлення колоскової луски

Комбінація схрещування та фенотипи компонентів	Кількість рослин з градацією			
	1	2	3	4
1. res15 (3) x Аврора (1)	15	33	16	0
2. res217 (3) x Аврора (1)	71	30	11	0
3. res177 (1) x res221/1 (3)	30	21	12	0
4. res211 (1) x res215 (3)	11	47	33	0
5. res53 (2) x res19 (1)	83	21		0
6. res196 (3) x res143 (1)	36	25	25	0
7. res142 (1) x res206 (4)	23	25	32	40
8. res142 (1) x res207 (4)	14	21	21	25
9. res7 (3) x res207 (4)	6	7	21	28
10. res189 (4) x res221 (1)	26	29	3	37

ці. Отже замість бівалента утворюються два уніваленти, а це призводить до зміни теоретично очікуваного співвідношення фенотипних класів щодо менделівського [4]. За умов однакової життєздатності всіх гамет та зигот очікувані частки рослин із червоними та темними лусками з градаціями 2 та 3 становлять 0,5625, 0,375 та 0,0625, і це не відрізняється від емпіричного розподілу за фенотипними класами ($\chi^2=3,37$). Отже, лінії res15 та res217 відрізняються від генотипу Аврори за одним геном забарвлення луски. Таке саме співвідношення між фенотипними класами спостерігається у F₂ комбінації 3 ($\chi^2=4,58$), отже лінія res221/1 з забарвленою лускою відрізняється від лінії res177 з незабарвленою лускою одним геном, і він має бути розташованим у складі чужинної хромосоми або великої транслокації, що сприяє утворенню в мейозі двох унівалентів замість бівалента. Розвиток червоного забарвлення зв'язують з геном *Rg1*, розташованим у хромосомі 1 В [5]. Гомеологічний ген *Rg2* є у хромосомі 1D *Ae. tauschii* та форм пшениці, що містять цю хромосому [1]. У якості гіпотези можна припустити, що гомеологічний ген *Rg2* міститься у хромосомах першої гомеологічної групи інших видів егілопса, в тому числі *Ae. sharonensis*, *Ae. speltooides*, *Ae. umbellulata*. Розщеплення, що не відрізняється від моногенного, при схрещуванні Аврори з лінією res15 може свідчити про те, що чужинний ген знаходиться у геномі лінії не у складі чужинної хромосоми, а у складі пшеничної хромосоми, куди потрапив в результаті транслокації або рекомбінації, оскільки геном *Ae. speltooides* сприяє кон'югації гомеологічних хромосом. Раніше було встановлено, що у генотипі Кавказ, сестринській лінії Аврори, у хромосомі 1D наявні два гени, що впливають на колір зрілої луски: *rg2* (червоний), *Rg3* (темний), а також нелокалізований рецесивний інгібітор останнього гену, *iRg3* [6]. Ця інформація, а також наявність унівалентів у МІ гібридів від схрещування інтрогресивних ліній дає змогу зрозуміти співвідношення розщеплення, які спостерігаються у комбінаціях 4–5, та тверджувати, що розщеплення відбувається за геном *iRg3*. У комбіна-

ції 6 спостерігається надлишок рослин з червоною лускою. З результатами вивчення цієї комбінації за гліадинами та SSR-локусами, специфічними до хромосоми 1D, показано переважну передачу хромосоми 1D, можливо, за рахунок транслокації на неї гаметоцидного гену з хромосоми 4S^{sh}, адже лінія res142 є похідним Аврорису.

В комбінаціях 7–10 беруть участь лінії-похідні Авролати з чорною лускою, цей колір якісно відрізняється від темно- та світло-коричневого. Поява серед рослин F₂ нащадків як з чорним, так і коричневим забарвленням показує, що лінії res206, res207, та res189 крім гену, що контролює чорне забарвлення та позначається нами як *Bg2*, несуть один з генів, завдяки якому формується коричнева луска. Найпростішу модель формування фенотипів у F₂ можна побудувати виходячи з такого припущення: 1) кожен з чужинних генів, *Rg2* та *Bg2*, входить до геному інтрогресивної лінії у складі чужинної або транслокованої хромосоми, які не формують бівалент з пшеничним гомеологом і будуть частково втрачатися у мейозі через унівалентний стан; 2) серед чоловічих гамет функціонують лише еуплоїдні; 3) сполучення генів *rg2* та *Bg2* на рівні фенотипу помилково класифікувалось нами як градація «3», а не «4». Емпіричні розподіли для перших трьох комбінацій схрещування не відрізнялись від розрахованого за цією моделлю теоретичного ($\chi^2=3,6$, $\chi^2=4,35$, $\chi^2=4,0$). Результати оцінки інтрогресивних ліній за кількома ознаками морфології колоса одночасно та інформація з літератури [5], дає змогу припустити, що ген *Bg2* локалізований у хромосомі 5U.

Розщеплення за опушенням колоскової луски спостерігали у восьми комбінаціях схрещування (табл. 2). Всі гібриди F₁ мали опушену луску.

За результатами вивчення генотипу Кавказ, сестринської лінії Аврора [6], у геномі D є три гени, що беруть участь у контролі ознаки опушення колоскової луски: *iHgl* — інгібітор широко відомого гену опушення луски *Hg*, розташованого у хромосомі 1 A, його рецесивний алель, *iHgl*, забезпечує суцільне густе опушення луски; *Hg2* — контролює розвиток опушення колоскової луски, у гомозигот за рецесивним алелем опушення відсутнє;

Таблиця 2

Розщеплення рослин F₂ за ознакою опушення колоскової луски

Комбінація схрещування та фенотипи компонентів	Кількість рослин F ₂ з таким фенотипом:	
	Луска опушена	Луска не опушена
1. res15 (1) x Аврора (1)	40	24
11. res206 (2) x res211 (6)	57	10
6. res196 (2) x res143 (1)	26	60
12. res226 (1) x res237 (6)	24	71
10. res189 (2) x res221/1 (1)	31	62
9. res7 (1) x res207 (6)	41	21
8. res142 (1) x res207 (6)	74	23
7. res142 (1) x res206 (2)	61	33

Hg3 — інгібує алель *iHgl*, рецесивний алель цього гену алель *iHgl* не інгібує. Гаплотип Кавказ за генами опушення, а отже і гаплотип Аврори, є *iHgl hg2 Hg3*, луска при цьому неопущена.

В комбінаціях схрещування 6 та 10 спостерігалось розщеплення 3 без опушення: 1 з опушенням ($\chi^2 = 1,26$ та $\chi^2 = 3,44$, відповідно), отже лінії з опушеною лускою мають гаплотип *iHgl Hg2 Hg3*. У комбінації 12 спостерігалось таке саме розщеплення 3 неопущених: 1 опушена ($\chi^2 = 0,003$). Лінія без опушення має гаплотип як у Аврори, а з опушенням — як лінія *res211 iHgl hg2 hg3*. У комбінаціях 8 та 9 спостерігалось розщеплення 3 з опушеною лускою: 1 з неопущеною ($\chi^2 = 2,60$ та $\chi^2 = 1,95$, $p > 0,05$, відповідно). Лінія 7 з неопущеною лускою мають генотип як у Аврори. Проте розщеплення у F_2 , начебто моногібридне, відрізняється від двох попередніх випадків тим, що домінантний клас представлений рослинами з опушеною лускою. Якщо б лінії *res7* та *res207* відрізнялися б тільки за геном *Hg2*, розщеплення за яким і дає те співвідношення між фенотипними класами, яке спостерігається, лінія *res207* мала б густе суцільне опушення, яке прилягає до луски, а вона має щетинчасте опушення, як лінії *res211* та *res237* з рецесивним алелем *hg3*, який дає змогу проявитися гену *iHgl*. Отже можна припустити, що щетинчасте опушення спричинюється рецесивним алелем гену *iHg*, а ген *Hg2* контролює розвиток густого опушення, яке прилягає до поверхні луски. Виходить, що компоненти схрещування розрізняються за двома генами, *Hg2* та *Hg3*, і у F_2 очікується розщеплення 12 з опушеною лускою: 4 з неопущеною, чому і відповідають емпіричні розщеплення для обох комбінацій схрещування. Отже лінія *res207* із щетинчастим опушенням має гаплотип *iHgl Hg2 hg3*. Серед нащадків F_2 комбінації 1 спостерігається розщеплення у співвідношенні 9 опушених: 7 неопущених ($\chi^2 = 1,02$), отже лінія *res15* має відрізнятися від генотипу Аврора за двома генами та мати гаплотип *iHgl Hg2 Hg3*. У комбінації 11 спостерігали розщеплення 13 з опушенням: 3 без опушення ($\chi^2 = 0,64$). Щоб обидві лінії були з опушеною лускою та відрізнялись одна від однієї за двома генами, вони мають мати гаплотипи *iHgl Hg2 hg3* та *iHgl hg2 hg3*, відповідно. Розщеплення у комбінації 8 відповідає теоретичному 40 опушених: 24 без опушення, яке очікується від схрещування лінії *res142* без опушення з генотипом як у Аврори з лінією *res206*, яка має відрізнятися від неї за трьома генами, отже, мати гаплотип *iHgl Hg2 hg3*. При вивченні опушення луски ми не реєстрували відхилень від менделівських співвідношень розщеплення. Очевидно, при розщепленні за двома та трьома генами для виявлення впливу анеуплоїдних гамет на співвідношення фенотипних класів вибірки мають бути більшими.

Відхилення від незалежного комбінування ознак забарвлення та опушення луски спостерігається у комбінаціях 8 та 11, які розщеплюються за генами *Bg2* та *Hg2*, у комбінаціях 9 та 10, які розщеплюються за генами *Rg2*, *Bg2* та *Hg2*, та у комбінації 7, що в ній відбувається розщеплення за ге-

ном *Bg2* та трьома генами опушення. У всіх випадках має місце надлишок рослин з чорною опушеною лускою та червоною неопушеною лускою та нестача рослин з рекомбінантними сполученнями ознак. Незалежне комбінування генів *Rg2 Hg2* показано на комбінаціях 1 та 6, а генів *Bg2* та *Hg3* — на комбінації 12. Отже, невільне комбінування ознак луски можна пояснити тільки сумісною передачею генів *Bg2* та *Hg2*.

Висновки

Досліджені інтрогресивні лінії м'якої пшениці відрізняються одна від одної та від рекурентного генотипу Аврори за одним чи кількома з 4-х генів, що беруть участь у контролі кольору зрілої колоскової луски та за одним, двома чи трьома генами опушення луски. Гени *Bg2* та *Hg2* успадковуються не вільно один від одного і розташовані, згодом, у хромосомі 5U.

Література

1. Khlestkina E. K., Röder M. S., Börner A. Mapping genes controlling anthocyanin pigmentation on the glume and pericarp in tetraploid wheat (*Triticum durum* L.) // *Euphytica*. — 2010. — Vol. 171. — P. 65–69.
2. Hailu F., Johansson E., Merker A. Patterns of phenotypic diversity for phonologic and qualitative traits in Ethiopian tetraploid wheat germplasm // *Genetic Resources and Crop Evolution*. — 2010. — Vol. 57. — P. 781–790.
3. Caballero L., Peña R. J., Martin L. M. et al. Characterization of Mexican Creole wheat landraces in relation to morphological characteristics and HMW glutenin subunit composition // *Genetic Resources and Crop Evolution*. — 2010. — Vol. 57. — P. 657–665.
4. Vdovychenko Zh. V., Antonyuk M. Z., Ternovskaya T. K. Genetic analysis of the *T. aestivum* / *Ae. sharonensis* introgressive lines of common wheat for resistance to powdery mildew // *Cytology and Genetics*, 2005, **39**, N, p. 21–30.
5. McIntosh R. A. et al. Catalogue of gene symbols for wheat. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolClassList.jsp>.
6. Терновская Т. К. Геном D мягкой пшеницы. Наследование некоторых признаков морфологии колоса // *Цитология и генетика*. — 1997. — Т. 31, № 4. — С. 11–18.

Резюме

Гибридологическим анализом интрогрессивных линий и рекуррентного генотипа мягкой пшеницы Аврора установлено генетическую конституцию линий по генам, контролирующим цвет зрелой колосковой чешуи (*Rg2*, *Rg3*, *iRg3*, *Bg2*) и ее опушения (*iHg1*, *Hg2*, *Hg3*). Гены *Bg2* и *Hg2* передаются сцепленно.

Genetic constitution of the introgressive wheat lines and the recurrent genotype Aurora for the genes controlling the color of mature glume (*Rg2*, *Rg3*, *iRg3*, *Bg2*) and glume hairiness (*iHg1*, *Hg2*, *Hg3*) was identified by hybridological analysis. Genes *Bg2* and *Hg2* are linked.

УГОЛЬНИКОВА Е. В., КАШИН А. С.

Саратовский государственный университет им. Н. Г. Чернышевского,
410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, e-mail: kashinas2@yandex.ru

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГАМЕТОФИТНОГО АПОМИКСИСА У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SALIX* L. В САРАТОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Проблема апомиксиса у растений привлекает внимание исследователей уже более 100 лет. Но отдельные виды цветковых растений и семейства в целом изучены в этом отношении явно недостаточно, поэтому любые исследования системы семенного размножения покрытосеменных заслуживают внимания. Целью данной работы было выявление частоты и форм гаметофитного апомиксиса в популяциях видов рода *Salix* (Salicaceae) по цитозембриологическим признакам и по семенной продуктивности при беспыльцевом режиме цветения.

Некоторые авторы считают, что у ив нередки случаи апомиксиса, причём как гаметофитного, так и спорофитного (Поддубная–Арнольди, 1976). Однако сведения об апомиксисе в данной группе очень фрагментарны и противоречивы. Работы, посвящённые этому вопросу, датируются в основном 30–60-ми гг. прошлого столетия (Федорова–Саркисова, 1931; Бекетовский, 1932; Ikeno, 1922; Blackburn, Harrison, 1924; Hakansson, 1956; Nagaraj, 1952; Tralay, 1957; Копецкий, 1960a, b). В списке С. С. Хохлова с соавт. (1978) для 4 видов *Salix* (*S. aurita*, *S. phylicifolia*, *S. purpurea*, *S. viminalis*) и 7 типов межвидовых гибридов (*S. daphnoides* × *Gmelini*, *S. phylicifolia* × *viminalis*, *S. longifolia* × *viminalis*, *S. purpurea* × *viminalis*, *S. purpurea* × *mollissima*, *S. viminalis* × *mollissima*, *S. viminalis* × *purpurea*) указывается способность к неустановленным формам автономного гаметофитного апомиксиса. Однако в более позднем обзоре J. Carman (1997) для представителей рода *Salix* указывается только нуцеллярная эмбриония, т. е. форма спорофитного апомиксиса (Carman, 1997).

Материалы и методы

Исследование проводилось в ряде районов Саратовской области в 2010–2011 гг. в 10 популяциях 8 видов рода *Salix*: *S. acutifolia* Willd., *S. caprea* L., *S. triandra* L., *S. cinerea* L., *S. Vinogradovii* A. Skvorts, *S. fragilis* L., *S. rosmarinifolia* L. и *S. dasyclados* Wimm. Видовая принадлежность растений определена д. б. н., проф. Березуцким М. А.

Исследовали семенную продуктивность растений в популяциях при двух режимах цветения: свободном цветении и беспыльцевом режиме цветения. Для анализа завязываемости семян в условиях беспыльцевого режима до начала цветения соцветия с женскими цветками помещали под пергаментные изоляторы до полного созревания семян. Частота завязываемости семян при свободном цветении или при беспыльцевом режиме цветения вычислялась как процентное отношение числа выполненных семян к общему числу цветков в соцветии.

Исследуемый материал подвергали дополнительному эмбриологическому контролю. Структуру семязачатков и зародышевых мешков исследовали на микроскопических препаратах, приготовленных с использованием метода просветления семязачатков (Нетт, 1971). По каждой популяции исследованных видов было проанализировано в среднем по 400–500 семязачатков.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены сравнительные данные о семенной продуктивности ив при свободном опылении и беспыльцевом режиме цветения. У растений исследованных видов *Salix* при свободном цветении в популяциях в основном отмечена высокая семенная продуктивность: от 55 до 92 %.

В условиях беспыльцевого режима семена завязались у растений 6 популяций 4 видов ив (*S. acutifolia*, *S. triandra*, *S. Vinogradovii*, *S. rosmarinifolia*), однако частота завязываемости семян была низкой (0.64–7.15 %). В остальных исследованных популяциях при беспыльцевом режиме цветения семена не завязались.

Результаты цитозембриологического изучения структуры мегагаметофита и прилегающих областей семязачатка у растений рода *Salix* представлены в табл. 2. В целом эти результаты подтвердили склонность к гамето-

Таблица 1

Семенная продуктивность растений исследованных видов рода *Salix* Саратовской области

№ популяции	Вид	Год исследования	Частота завязываемости семян, %	
			при свободном цветении	при беспыльцевом режиме цветения
1	<i>S. acutifolia</i> Willd.	2010	55.61±4.93	7.15±1.64
		2011	70.30±2.96	0
1 а	<i>S. acutifolia</i> Willd.	2010	—	1.25±0.04
		2011	26.74±7.20	0
2	<i>S. caprea</i> L.	2010	82.70±3.55	0
		2011	6.62±2.59	0
3	<i>S. triandra</i> L.	2010	70.34±2.73	0
		2011	92.83±3.79	1.24±0.41
4	<i>S. cinerea</i> L.	2010	68.22±3.60	0
		2011	—	0
5	<i>S. Vinogradovii</i> A. Skvorts	2010	69.18±3.23	0
		2011	60.49±6.54	0.67±0.27
6	<i>S. rosmarinifolia</i> L.	2010	56.41±6.29	4.05±0.12
		2011	53.25±5.32	0.64±0.38
6 а	<i>S. rosmarinifolia</i> L.	2011	63.58±4.69	1.90±0.45
7	<i>S. dasyclados</i> Wimm.	2011	35.61±7.10	0
8	<i>S. fragilis</i> L.	2011	62.74±5.30	0

Примечание. По незаполненным ячейкам данных нет.

Таблица 2

Структура мегагаметофитов растений видов *Salix* в исследованных популяциях

№ популяции	Название вида	Год исследования, 20... г.	Зародышевые мешки нормального строения, %	Дегенерировавшие ЗМ, %	Явление апомиксиса, %					
					проэмбрио	эндосперм	обе структуры	клетки, подобные апоспорическим инициалам	дегенер. зусп. ЗМ и апосп. инициали	всего
1	<i>S. acutifolia</i>	10	58.72	7.83	6.05	1.78	3.91	16.37	5.34	33.45
		11	94.18	0.0	0.0	0.0	0.0	5.82	0.0	5.82
1 а	<i>S. acutifolia</i>	10	93.47	0.2	0.2	0.0	0.0	4.29	1.63	6.12
		11	96.39	0.0	0.0	0.0	0.0	3.05	0.55	3.60
2	<i>S. caprea</i>	10	86.56	1.65	0.0	0.0	0.0	7.08	4.72	11.80
		11	91.74	3.81	0.0	0.0	0.0	4.03	0.42	4.45
3	<i>S. triandra</i>	10	95.14	0.0	0.37	0.0	0.0	4.48	0.0	4.85
		11	96.91	0.0	0.0	0.0	0.0	3.09	0.0	3.09
4	<i>S. cinerea</i>	10	98.59	0.28	0.0	0.0	0.28	0.84	0.0	1.12
		11	96.05	0.0	0.0	0.0	0.0	3.94	0.0	3.94
5	<i>S. Vinogradovii</i>	10	86.45	0.33	2.00	0.0	0.0	10.20	1.00	13.20
		11	97.42	0.51	0.0	0.0	0.0	2.06	0.0	2.06
6	<i>S. rosmarinifolia</i>	10	92.63	0.46	0.0	0.0	0.0	6.91	0.0	6.91
		11	94.44	1.51	0.0	0.0	0.0	4.04	0.0	4.04
6 а	<i>S. rosmarinifolia</i>	10	91.94	0.95	0.0	0.0	0.0	7.11	0.0	7.11
		11	95.98	0.0	0.0	0.0	0.0	4.01	0.0	4.01
7	<i>S. fragilis</i>	11	97.00	0.0	0.0	0.0	0.0	3.0	0.0	3.00
8	<i>S. dasyclados</i>	11	99.62	0.0	0.0	0.0	0.0	0.38	0.0	0.38

фитному апомиксису у видов, у которых она была выявлена при изучении семенной продуктивности при беспыльцевом режиме цветения.

У растений обоих популяций *S. acutifolia* в оба года наблюдения обнаружены цитозмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса. При этом максимальной их доля была выявлена в популяции 1 в 2010 г. (33.45 %). Основным цитозмбриологическим признаком гаметофитного апомиксиса было формирование в семязачатках апоспорических инициалей с частотой более 16%. Интересно, что в более чем в 5% случаев в анализируемых семязачатках были обнаружены апоспорические инициали в присутствии дегенерирующих на зрелой стадии эуспорических мегагаметофитов. Это косвенно может указывать на то, что в семязачатках растений данного вида именно эуспорические мегагаметофиты дегенерируют, а апоспорически инициали развиваются в апоспорические мегагаметофиты. Реже отме-

чались остальные признаки апомиксиса. В то же время в 2011 г. у растений той же популяции частота формирования в семязачатках рядом с эуспорическим зародышевым мешком или тетрадой мегаспор апоспорических инициалей отмечена лишь на уровне 5.82 %, а остальные цитозмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса у растений не обнаружены. В целом частота обнаружения цитозмбриологических признаков гаметофитного апомиксиса у растений данной популяции в 2011 г. была почти в 6 раз ниже, чем в 2010 г. У растений популяции 1а данного вида в оба года наблюдений частота встречаемости цитозмбриологических признаков гаметофитного апомиксиса была относительно стабильной и близкой к той, что отмечена в популяции 1в в 2011 г. (3.55–5.94 %).

Таким образом, по результатам исследования растения обеих популяций *S. acutifolia* следует отнести к факультативно апомиктичным. При этом они характеризуются слабой выраженностью и варьирующей частотой автономного апомиксиса, либо цитозмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса далеко не всегда реализуются у них на уровне способа семенного воспроизводства и соответствующие структуры останавливаются в развитии на ранних стадиях.

Частота встречаемости цитозмбриологических признаков апомиксиса выше 10 % выявлена в 2010 г. в популяциях *S. caprea* (11.80 %) и *S. Vinogradovii* (13.20 %). При этом в качестве единственного признака гаметофитного апомиксиса у *S. caprea* обнаружено формирование в семязачатках апоспорических инициалей (с частотой около 7 %). Из них в более чем в 4 % случаев в анализируемых семязачатках формирование апоспорических инициалей происходило в присутствии дегенерирующих эуспорических мегагаметофитов. В 2011 г. цитозмбриологические признаки апомиксиса *S. caprea* отмечены на уровне менее 5 %. Близкий характер изменчивости имел место и у *S. Vinogradovii*. Выше уже упоминалось о том, что в оба года исследования при беспыльцевом режиме цветения у растений данного вида семена либо не завязывались (*S. caprea*), либо завязались с низкой частотой (0.67 ± 0.27 %) только в 2011 г. (*S. Vinogradovii*). Это говорит о том, что либо у них апомиксис встречается лишь в псевдогамной форме, либо апоспорические инициалы в части семязачатков останавливаются в развитии и на их основе не формируются семена.

Цитозмбриологические признаки гаметофитного апомиксиса с более низкой частотой (в основном на уровне 3–7 %) выявлены и у растений ещё пяти видов (*S. triandra*, *S. cinerea*, *S. fragilis*, *S. dasyclados* и *S. rosmarinifolia*). Для *S. dasyclados* отмечен очень низкий процент апомиксиса (0.38 %) и нулевая частота завязываемости семян.

Характерно, что в большинстве исследованных на протяжении двух лет популяций видов, за исключением популяции *S. cinerea*, частота обнаружения цитозмбриологических признаков гаметофитного апомиксиса в 2011 г. была существенно (в 1.6–6.4 раз) ниже, чем в 2010 г, что указывает на зависимость проявления этих признаков от погодных условий года. При

этом 2010 г. характеризовался предельной засушливостью условий в течение всего вегетационного периода, начиная с апреля.

Выводы

Таким образом, установлена способность к факультативному гаметофитному апомиксису у растений 8 популяций 6 видов *Salix* (*S. acutifolia*, *S. caprea*, *S. triandra*, *S. cinerea*, *S. Vinogradovii*, *S. rosmarinifolia*). Для всех исследованных видов эта способность отмечена впервые. Большинству из них свойственна, скорее всего, псевдогамная форма гаметофитного апомиксиса. Максимальная частота цитоэмбриологических признаков гаметофитного апомиксиса обнаружена у растений *S. acutifolia*. Растениям всех исследованных видов свойственна апоспория.

Литература

1. Бекетовский А. Н. К вопросу о партенокарпии *Salix alba* L., *S. capreae* L., *Populus alba* L., *Ulmus campestris* L. // Ботан. журн. СССР. 1932. Вып. 17. С. 358–400.
2. Поддубная–Арнольди В. А. Цитоэмбриология покрытосеменных растений. М.: Наука, 1976.— 508 с.
3. Федорова–Саркисова О. В. Об апогамии у ив // Тр. ин-та исследований по лесному хозяйству и лесной промышленности. 1931. Вып. 10. С. 59–63.
4. Хохлов С. С., Зайцева М. И., Куприянов П. Г. Выявление апомиктических растений во флоре цветковых растений СССР. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1978. 224 с.
5. Blackburn K. B., Harrison J. W. H. A preliminary account of chromosomes and chromosome behaviour in the Salicaceae // Ann. Bot. 1924. Vol. 38. P. 361–378.
6. Carman J. G. Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority, and polyembryony // Biol. J. Linn. Soc. 1997. Vol. 61. P. 51–94.
7. Hakansson A. Chromosome number and meiosis *Salix (grandifolia* x *gracilistyla*) x *S. (silesiaca* x *argyptiaca*) // Hereditas. 1956. Vol. 42. P. 519–520.
8. Herr J. M. A new clearing squash technique for the study of ovule development in angiosperms // Amer. J. Bot. 1971. Vol. 58. P. 785–790.
9. Ikeno S. On hybridization of some species of *Salix* // Ann. Bot. 1922. Vol. 36. P. 175–191.
10. Kopecky F. Experimentelle Erzeugung von haploiden Weibpappeln (*Populus alba* L.) // Silvac. genet. 1960b. Bd. 9. S. 102–105.
11. Kopecky F. Haploid *Populus alba* L. kiserleti eloallitasa // Erdesz. Kutatasok. 1960 a. Vol. 56. P. 151–158.
12. Nagaraj M. Floral morphology of *Populus deltoids* and *P. tremuloides* // Bot. gaz. 1952. Vol. 114, № 2. P. 222–243.
13. Tralav H. Über die haploid Form von *Populus tremula* aus Uppland // Bot. Not. 1957. Bd. 110. S. 481–483.

Резюме

В ходе цитоэмбриологического исследования и исследования семенной продуктивности растений видов рода *Salix*, произрастающих в различных районах Саратовской области, установлена способность к гаметофитному апомиксису в 8 популяциях 6 видов. Для исследованных видов этот способ размножения отмечен впервые.

During the cytoembriological investigation and the research of seed productivity of the species of *Salix* L., growing in the different areas of Saratov region the ability of gametophyte apomixis was found out in 8 populations of 6 species of willows. This way of seeded reproduction of willows was noticed for the first time.

ХОМЕНКО С.О., СОЛОНА В.Й.

*Миронівський інститут пшениці імені В. М. Ремесла НААН України
Україна, 08853, с.Центральне Миронівського району Київської області
e-mail: mwheats@mail.ru*

АДАПТИВНІСТЬ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ В УМОВАХ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

В селекції необхідно поряд із оцінкою рівня урожаю, тобто генетично обумовленого середнього урожаю сорту в конкретних екологічних ситуаціях, знати характер його реакції на умови середовища. Показники ступеня реакції генотипів на зміну умов середовища характеризують властивості сорту — його пластичність та стабільність в реалізації рівня розвитку ознак. Тому ці ознаки використовують як в генетичному, так і в агрономічному розумінні [1]. Сучасна динаміка мінливості фізичного і біотичного середовища характеризується посиленням рівня і частоти прояву несприятливих для вегетації рослин умов і вимагає принципів адаптивного землеробства, однією із складових якого є сорт. Особливо актуальним завданням селекції в сучасних умовах є створення адаптивних сортів з високою потенційною урожайністю. Все більше уваги приділяється їх екологічній пластичності і стабільності, а також взаємозв'язку урожайності з параметрами екологічної пластичності [2].

Селекційна робота розпочинається з формування і всебічного вивчення вихідного матеріалу. З цієї метою вивчається інформаційна база та щорічно перевіряється в польових умовах базова колекція пшениці. В результаті були виділені джерела цінних селекційних ознак, на основі яких створена робоча колекція (ознакова), що налічує в середньому по роках досліджень 200 номерів пшениці м'якої. В ній розміщуються сорти різного еколого-географічного походження і константні гібридні лінії (переважно власної селекції), які виділяються за певною цінною ознакою або групою чи, зрідка, комплексом їх. Цінним матеріалом також є зразки отримані з міжнародних центрів CIMMYT та ICARDA, бо включення в гібридизацію форм інших екотипів з місцевими сортами дозволяє створити великий запас генетичної мінливості не за однією, а за багатьма ознаками. При цьому проявляються рекомбінації з необхідними параметрами висоти рослин, продуктивності і якості зерна. Ці форми характеризуються ранньостиглістю, низькорослістю (55–70 см), високою стійкістю до хвороб, зокрема до бурі і ржі.

Матеріал та методи

Для оцінки адаптивного потенціалу колекційних зразків були використані статистичні характеристики висоти рослин, маси 1000 зерен, маси зерна колоса та кількості зерен колоса, які були отримані впродовж 2007–2011 років в польових умовах для 67 зразків пшениці м'якої ярої та 22 твердої ярої. Робоча ознакова колекція була сформована в процесі селекційної роботи зі зразків з комплексом чи окремими позитивними ознаками.

Проводилось обчислення таких статистичних характеристик: середні арифметичні ($\bar{x}$); мінімальні ($x_{\min}$) і максимальні значення ($x_{\max}$); розмах варіювання ($R = x_{\max} - x_{\min}$); коефіцієнти варіації (V) [3]. Розраховані також показники стабільності (b_i — коефіцієнт регресії) і пластичності (S_i^2 — середнє квадратичне відхилення фактичних показників від теоретично очікуваних ліній регресії) [4]. Для характеристики кількісних показників застосували метод непараметричної статистики за Дж. У. Снедекором [5] для ранжування, означивши ранг як Z .

Максимальний рівень прояву ознак, що вивчались, спостерігався в умовах 2008 року, вкрай несприятливим для пшениці ярої виявився 2007 рік — на ріст та розвиток рослин негативно вплинули дефіцит вологості та плюсові температурні аномалії. За середнім популяційним проявом ознак 2009–2011 роки були досить близькими, хоча для окремих генотипів більш сприятливим виявився той або інший рік.

Результати та обговорення

Аналіз отриманих статистичних характеристик показує, що найменше на зміну умов середовища реагували показники маси 1000 зерен. Коефіцієнт варіації коливався від 3,4 до 23,8% у зразків м'якої та від 6,6 до 14,6% у твердої пшениці. Решта ознак істотно змінювалась під впливом умов вирощування — варіація досягала 37,7–65,8%, хоча по кожній досліджуваній ознаці виявлені зразки з варіабельністю в межах 5,3–10,5%. (табл. 1).

Об'єктивну оцінку загальної адаптивної здатності дає середня арифметична ($\bar{x}$) значень ознаки генотипу, що вивчається (в даному випадку варіабельність маси зерна колоса під дією мінливості чинників довкілля впродовж 5 років) у всіх середовищах екологічного градієнта. У зразків першої групи (табл. 2), висока позитивна різниця між середніми арифметичними показниками маси зерна колоса і її середнім популяційним значенням, що наочно доповнює цю оцінку за методикою П. П. Літуна [6]. Порівняно з іншими більш високі значення мінімального показника ознаки (ранги 1–3) мали зразки Харківська 26, Bow (Crow)/BUC//..., Chibia/5/CNDO..., CM SS₉₅MO₁₁₂₂S та Лютесценс 97–42. Різниця між максимальними і мінімальними значеннями ознаки ($R = \max - \min$, розмах варіювання) характеризує стабільність її у конкретного генотипу. Ранжирування цього ряду значень маси зерна колоса показує, що кращими показниками стабільності відрізняються ці ж зразки. Слід відмітити, що практично всі зразки цієї групи характеризуються значенням коефіцієнта регресії більше одиниці. Найвищі показники коефіцієнта регресії (b_i) мають зразки Bow (Crow)/BUC//..., CMSS₉₅MD₁₁₄₀SS, Sokoll, що свідчить про їх більш високу потребу до умов вирощування, тобто, це зразки підвищеної інтенсивності і ранжирування за цією ознакою було проведено починаючи з найвищого показника коефіцієнта регресії. Ранжирування варіанс стабільності (S_i^2) маси зерна колоса виділяє зразки Харківська 26, Chibia/5/CNDO... та Лютесценс 97–42. Для узагальненої характеристики оцінки рівня адаптивності і її диференціації,

Таблиця 1

Параметри статистичних характеристик колекційних зразків пшениці ярої м'якої та твердої, МПП. Середнє 2007–2011 рр.

Ознаки	Пшениця м'яка яра	Пшениця тверда яра
Висота рослин, см		
$\bar{x}$ популяції	74,0	80,2
$\bar{x}_i \min \div \bar{x}_i \max$	32,0 ÷ 113,5	56,3 ÷ 111,3
max	152	140
min	23	43
V %	10,5 ÷ 37,7	16,7 ÷ 30,8
Маса 1000 зерен, г		
$\bar{x}$ популяції	42,2	50,2
$\bar{x}_i \min \div \bar{x}_i \max$	34,3 ÷ 52,3	44,3 ÷ 54,9
max	59,9	61,1
min	28,7	39,0
V %	3,4 ÷ 23,8	6,6 ÷ 14,6
Маса зерен колоса, г		
$\bar{x}$ популяції	1,38	1,26
$\bar{x}_i \min \div \bar{x}_i \max$	0,9 ÷ 1,7	1,0 ÷ 1,5
max	2,75	2,53
min	0,47	0,6
V %	12,8 ÷ 53,3	12,7 ÷ 65,8
Кількість зерен колоса, шт.		
$\bar{x}$ популяції	32,4	24,5
$\bar{x}_i \min \div \bar{x}_i \max$	22,8 ÷ 44,0	20,0 ÷ 30,8
max	58	47
min	15	12
V %	10,8 ÷ 50,1	5,3 ÷ 43,9

Таблиця 2

Параметри маси зерна з колоса (г) та її стабільності у колекційних зразках пшениці м'якої ярої інтенсивного типу. МПП, середнє за 2007–2011 рр.

Походження	$\bar{x} - Z$	Max – Z	Min – Z	R – Z	V % – Z	$S_i^2 - Z$	$b_i - Z$	Середнє суми рангів, Y
Харківська 26	1,7–1	2,2–5	1,2–1	1,0–1	22,9–1	0,39–1	0,78–7	2,43
Chibia/S/CNDO/...	1,7–1	2,4–4	1,0–3	1,4–3	34,1–2	0,58–2	1,18–4	2,71
CM SS ₉₅ MO ₁₁₂₂ S	1,7–1	2,5–3	1,1–2	1,4–3	36,5–4	0,62–4	1,12–6	3,29
Лютесценс 97–42	1,7–1	2,4–4	1,1–2	1,3–2	35,8–3	0,61–3	1,16–5	2,86
Bow (Crow)/BUC/...	1,7–1	2,6–2	1,2–1	1,4–3	37,0–5	0,63–5	1,26–3	2,86
CM SS ₉₅ MO ₁₁₄₀ S	1,7–1	2,5–3	0,9–4	1,6–4	40,0–6	0,68–6	1,34–2	3,71
Sokoll	1,6–2	2,8–1	1,0–3	1,8–5	51,3–7	0,82–7	1,69–1	3,71

було використано обчислення середнього показника рангу і ранжирування його. Зразки, що мають низькі значення цього показника і займають перші місця в ранжирі (1–3), варто зараховувати до групи з високою адаптивною здатністю.

Друга група зразків, які характеризуються за комплексом параметрів пластичності та стабільності мала показник маси зерна з колоса на рівні середнього популяційного, нижчі показники максимального і мінімального прояву ознаки та менший розмах варіювання (табл. 3). Відповідно ці зразки відзначались нижчим коефіцієнтом варіації, що свідчить про високу стабільність генотипів за ознакою маси зерна колоса. Показник коефіцієнта регресії для цих зразків значно нижчий одиниці, що також характеризує ці зразки як стабільні за цією ознакою. Варіанси стабільності значно нижчі ніж у зразків попередньої групи. Для отримання узагальненої оцінки ранжирування за показником коефіцієнта регресії починали з найменшого значення, як ознаки високої стабільності. За середнім рангом виділись зразки Ставицька, Еритроспермум 03–39 та Krichauff.

Отже з отриманих результатів можна зробити висновки, що кращі за середніми рангами зразки з першої групи можна рекомендувати як джерела високої інтенсивності, а зразки з другої групи як джерела стабільного прояву ознаки. Аналіз вихідного матеріалу за комплексом параметрів пластичності та стабільності необхідно проводити виходячи з напрямку бажаного використання вихідного матеріалу.

Аналіз параметрів маси зерна з колоса та її стабільності у зразків пшениці ярої твердої (табл. 4) дозволив виділити зразки з підвищеною адаптивною здатністю за середнім рангом. Зразки, які мають низькі значення цього показника і займають перші місця у ранжируванні (1–3) відно-

Таблиця 3

Параметри маси зерна з колоса ($\bar{x}$) та її стабільності у колекційних зразків пшениці м'якої ярої пластичного типу. МПІ, середнє за 2007–2011 рр.

Походження	$\bar{x} - Z$	Max – Z	Min – Z	R – Z	V% – Z	$S_1^2 - Z$	$b_1 - Z$	Середнє суми рангів, $\bar{Y}$
Sunnan	1,4–1	2,0–1	1,1–2	0,9–4	30,0–5	0,42–5	0,74–6	3,43
Недра/Tipa	1,4–1	1,7–3	1,0–3	0,7–3	27,1–4	0,38–4	0,58–4	3,14
Ставицька	1,4–1	1,0–3	1,2–1	0,4–1	12,8–1	0,18–1	0,37–1	1,29
Іволга/Миронів-чанка	1,3–2	1,8–2	0,7–4	1,0–5	35,4–6	0,46–6	0,63–5	4,29
Еритроспер. 03–39	1,3–2	1,7–3	1,0–3	0,7–3	23,0–3	0,30–3	0,57–3	2,86
Krichauff	1,3–2	1,5–4	1,0–3	0,5–2	17,5–2	0,21–2	0,44–2	2,57

Таблиця 4

Параметри маси зерна з колоса ($\bar{x}$) та її стабільності у колекційних зразках пшениці твердої ярої. МП, середнє за 2007–2011 рр.

Походження	$\bar{x} - Z$	Max - Z	Min - Z	R - Z	V% - Z	$S_1^2 - Z$	$b_1 - Z$	Середнє суми рангів, Y
Харківська 19	1,4–2	2,1–4	0,9–4	1,2–4	35,0–4	0,49–4	1,09–4	3,71
Луганська 7	1,4–2	1,6–7	1,2–2	0,4–1	12,9–2	0,18–1	0,38–7	3,14
Леукурум 05–20	1,3–3	2,2–3	0,6–6	1,6–5	49,8–7	0,68–6	1,56–3	4,71
Леукурум 06–07	1,2–4	2,3–2	0,6–6	1,7–6	65,8–8	0,79–8	1,79–1	5,00
Sooty-9/Rascon-37// Woduck/CHAM ₃	1,5–1	2,5–1	0,9–4	1,6–5	48,0–6	0,72–7	1,66–2	3,57
(Мир.28xAdditionV ₂ / 2h=44)xUveyik126/...	1,5–1	1,7–6	1,3–1	0,4–1	12,7–1	0,19–2	0,43–6	2,57
Харківська 29	1,5–1	1,9–5	0,8–5	1,1–3	36,0–5	0,54–5	0,30–8	4,57
Харків.23/Exodur	1,4–2	1,9–5	1,1–3	0,8–2	22,1–3	0,31–3	0,68–5	3,29

сяться до групи зразків з високою адаптивною здатністю: Мир.28/Addition (V₂/2h=24)//Uveyik, Харківська 23×Exodur та Луганська 7.

Висновки

На основі аналізу параметрів маси зерна колоса та її варіабельності під дією мінливості чинників довкілля впродовж 2007–10 років виділені зразки пшениці ярої м'якої та твердої з підвищеною адаптивною здатністю. Для пшениці ярої твердої це Миронівська 28/Addition (V₂/2h=24)//Uveyik, Харківська 23×Exodur та Луганська 7, для м'якої це дві групи зразків: джерела високої інтенсивності — Харківська 26, Chibia/5/CNDO... та Лютеценс 97–42; джерела стабільного прояву ознаки — Ставицька, Еритроспермум 03–39 та Krichauff.

Література

1. Литун П. П., Коломацкая В. П., Белкин А. А., Садовой А. А. Генетика макропризнаков и селекционно-ориентированные генетические анализы в селекции растений. — Харьков, 2004. — 133 с.
2. Сапега В. А. Об урожайности и адаптивности сортов мягкой пшеницы // Селекция и семеноводство. — 2005. — № 2. — С. 2–5.
3. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта: (С основами статистической обработки результатов исследований). — Изд. 4-е, перераб. и доп. — М.: Колос, 1979. — 416 с.
4. Пакудин В. З. Оценка экологической пластичности сортов // Генетический анализ количественных и качественных признаков с помощью математико-статистических методов. — М.: ВНИИТЭИСХ, 1973. — С. 40–45.
5. Снедекор Дж. У. Статистические методы в применении к исследованиям в сельском хозяйстве и биологии: Пер. с англ. В. Н. Перегудова. — М.: Сельхозиздат, 1961. — 503 с.

6. Литун П. П. Взаимодействие генотип-среда в генетических исследованиях и способы его изучения // Проблемы отбора и оценки селекционного материала. — К.: Наукова думка, 1980. — С. 63–93.

Резюме

Оцінювали мінливість статистичних характеристик висоти рослин, маси 1000 зерен, маси зерна колоса та кількості зерен колоса, які були отримані впродовж 2007–2011 років в польових умовах для 67 зразків пшениці м'якої та 22 твердої ярої. На основі аналізу параметрів маси зерна колоса та її варіабельності під дією мінливості чинників довкілля виділені зразки пшениці ярої з підвищеною адаптивною здатністю.

Оценивали изменчивость статистических характеристик высоты растений, массы 1000 зерен, массы зерна с колоса и количества зерен в колосе, полученных на протяжении 2007–2011 годов в полевых условиях для 67 образцов пшеницы мягкой и 22 твердой яровой. На основании анализа параметров массы зерна с колоса и ее вариабельности под действием изменчивости факторов среды выделены образцы пшеницы яровой с повышенной адаптивной способностью.

Variability of statistical characteristics of plant height, 1000 grain weight, grain weight and number of grains per ear, obtained during 2007–2011 in the field for 67 samples of soft spring wheat and 22 samples of hard spring wheat were estimated. Based on the analysis of parameters of mass of grain per ear and its variability under the influence of variation in environmental factors, samples of spring wheat with high adaptive capacity have been selected.

ЧЕБОТАР Г. О.¹, ЧЕБОТАР С. В.¹, БАЛАШОВА І. А.¹, ЩЕРБАНЬ А. Б.², СИВОЛАП Ю. М.¹

¹ Південний біотехнологічний центр в рослинництві НААН України,

Овідіопольська дор., 3, м. Одеса, 65036, Україна,

e-mail: sabina-chebotar@rambler.ru

² Інститут цитології і генетики СВ РАН, просп. Акад. Лаврентьєва, 10, 630090, Новосибірськ, Російська Федерація

АЛЕЛІ ГЕНА *Ppd-D1* В СОРТАХ ЯРИХ ТА ОЗИМИХ ПШЕНИЦЬ УКРАЇНИ ТА РОСІЙСЬКОЇ ФЕДЕРАЦІЇ

М'яка пшениця (*Triticum aestivum* L.) — одна з основних продовольчих культур, яка займає посівні площі від 65° північної до 45° південної широти, проте найкраще пристосована до регіонів з помірним кліматом. Тривалість вегетаційного періоду і темпи індивідуального розвитку, зокрема тривалість періоду до колосіння/цвітіння, є одними з найважливіших ознак, що визначають ступінь адаптивності до конкретних умов вирощування, та контролюються декількома генетичними системами, в тому числі, генами фотоперіодичної відповіді (*Ppd*), розташованими на другій гомеологічній групі хромосом — *Ppd-A1* (2A), *Ppd-B1* (2B), *Ppd-D1* (2D). *Ppd*-гени кодують білки — регулятори псевдо відповіді (PRR), які беруть участь в активації шляхів фоторегуляції (Beales et al., 2007).

В залежності від алельного стану генів *Ppd* рослини пшениці є слабо (домінантні алелі) або високо (рецесивні алелі) чутливими до тривалості світлового дня. Одним з найбільш сильних алелів, який приводить до зниження чутливості до фотоперіоду (нечутливості), та потенційно сприяє більшій раннестиглості є *Ppd-D1a*.

Знання молекулярної структури *Ppd-D1* розширилися за останні п'ять років завдяки роботам Beales et al. (2007), Wilhelm et al. (2009), Guo et al. (2010), Huang et al., 2011. Нечутливість до фотоперіоду привносить делеція розміром 2089 п. н. в промоторній зоні гена перед кодуєчим регіоном (алель *Ppd-D1a*), чутливий до фотоперіоду генотип має алель *Ppd-D1b* — тобто не має такої делеції. Проте наявність *Ppd-D1b* алеля не виключає існування домінантних алелів інших генів *Ppd* в генотипі. За гіпотезою Guo et al. (2010) на місці делеції 2089 п. н. в минулому був сайт зв'язування з транскрипційним фактором — негативним регулятором, втрата цього сайту (або втрата можливості його пізнавати) слугує для підвищення експресії алелю *Ppd-D1a*.

Крім реакції на фотоперіод ген *Ppd-D1* впливає на висоту рослини (Worland et al., 1998), призводить до більш раннього колосіння і сприяє скороченню вегетаційного періоду, що дозволяє рослинам пшениці уникати посухи та високих температур у період наливу зерна у південних регіонах Європи. Проте в Сибіру та на Уралі короткий вегетаційний період, обмежений пізнім настанням весни та ранніми осінніми заморозками, а перша частина літа, коли відбувається закладка основи врожаю, посушлива, особливо в степових районах. За таких умов переваги повинні надаватися більш пізньостиглим або середньостиглим сортам, оскільки у ранньостиглих може формуватися не продуктивний колос, що негативно впливає на врожай. Вочевидь селекційну цінність мають генотипи з більш довгим етапом до колосіння, що в певній мірі, коректується високим рівнем чутливості до фотоперіоду.

На сьогодні ярі сорти пшениці України та наведені сорти ярої пшениці Російської Федерації (РФ) не досліджувалися за алельним складом гена *Ppd-D1*. Наявність генетично ідентифікованого матеріалу є необхідною умовою, при розробці шляхів цілеспрямованого добору генотипів з певною тривалістю вегетаційного періоду.

Метою роботи є визначення алельного стану гена *Ppd-D1*, у генотипах сортів ярої та озимої м'якої пшениці, пристосованих для вирощування у різних кліматичних зонах України та РФ.

Матеріали та методи

За допомогою алель-специфічної ПЛІР з праймерами до гена *Ppd-D1* (Beales et al., 2007) досліджено 27 сортів ярої м'якої пшениці згідно Реєстру сортів придатних до поширення в Україні в 2011 р. — Ажурная, Аншлаг, Вітка, Етос, Елегія миронівська, Етюд, Євдокія, Катюша, Краса полісся, Недра, Печерянка, Рання-93, Струна миронівська, Дніпрянка, Скорос-

пілка 95, Скороспілка 98, Скороспілка 99, Сюїта, Торчинська, Харківська 26, Харківська 30, Колективна 3, Героїня, Срібнянка, Стависька, Натаса, Аранка отриманих з колекції Національного центру генетичних ресурсів рослин України (НЦГРРУ) при Інституті рослинництва ім. В.Я. Юр'єва (м. Харків). Також встановлено алельний стан гена *Ppd-D1* у 33 ярих сортів російської та казахської селекції з колекції Інституту цитології і генетики СВ РАН (РФ): Мільтурум 321, Цезіум 111, Сібаковська 3, Сибірячка 4, Ір-тишанка 10, Сибірячка 8, Еритролеукон 503, Коктункульська 322, Омська 9, Лютесценс 55/11, Дуванка 501, Русак, Бурятська 34, Жниця, Полтавка, Піротрикс 28, Саратовська 46, Лютесценс 53/12, Мільтурум 162, Саратовська 29, Ферругінеум Н13, Саррубра, Балаганка, Тулун 14, Сибірка 1818, Наримська 3, Іскра, Победа, Стріла, Шортандинка, Дружба, Ударниця, Акмолінка 1. Сорти, що аналізувалися в роботі, адаптовані до контрастних умов вирощування: Південна та Центральна Україна, Східний та Західний Сибір, Урал, Казахстан та створені в різні роки в різних селекційних центрах. У дослідження було також залучено 11 сортів озимої м'якої пшениці: Коператорка (сорт створений в 1929 р.), Одеська 3 (1938), Одеська 16 (1947), Миронівська 808 (1967), Одеська 51 (1968), Одеська напівкарликова (1976), Альбатрос одеський (1990), Лузанівка одеська (2001), Бунчук (2009), Жарвій (2010), Борвій (2010), створених з 1929 по 2010 роки в Україні.

Результати

Загалом в роботі проаналізовано алельний стан локусу *Ppd-D1* у 71 переважно ярих сортів м'якої пшениці, які є представниками високо продуктивних генотипів, створених для вирощування в кліматичних умовах України, Західного і Східного Сибіру, Південного Уралу та Казахстану. Показано, що 26% аналізуємих сортів ярої пшениці з колекції НЦГРРУ характеризувалися наявністю алеля *Ppd-D1a*, що вказує на їх низьку фоточутливість. Два з досліджених сортів були гетерогенними за алельним станом *Ppd-D1* гену, в той час як 67% сортів несли алель *Ppd-D1b*. Серед 33 сортів ярої пшениці, наданих для дослідження ПЦГ, всі мали алель *Ppd-D1b*. Ці сорти характеризуються в основному як середньостиглі, що в певній мірі може бути обумовлено алельним станом маркуємого гена. Широка розповсюдженість алелю *Ppd-D1b* серед сортів різних кліматичних зон РФ, свідчить про селекційну цінність генотипів з відносно тривалим періодом до колосіння.

Отож, серед ярих сортів переважає наявність алеля *Ppd-D1b*, а сучасні і найбільш продуктивні озимі сорти, що вирощують в Україні, характеризуються, як слабо чутливі до фотоперіоду та мають домінантний алель *Ppd-D1a* (Мутерко, Балашова, 2011; Чеботар та ін., 2012).

Отримані дані аналізу алельного стану переважно вітчизняних сортів пшениці за *Ppd-D1* геном за допомогою мультиплексної ПЛР (Балашова и др., 2010), які проводилися в Південному біотехнологічному центрі в рослинництві НААН, мають деякі розходження з результатами генетичного аналізу алелів *Ppd-D1* (Балашова и др., 2010). Серед 48 протестованих

(Мутерко, Балашова, 2011) генотипів, як ярої, так і озимої пшениці, показано, що більша кількість сортів носії домінантного алеля *Ppd-D1a*, цю тенденцію автори (Мутерко, Балашова, 2011) пов'язують з добором генотипів, який історично сформувався в рамках селекційних програм, направлених на створення максимально адаптованих до умов навколишнього середовища сортів та ліній. Підсумовуючи дані Worland et al. (1998), що стосуються успадкування алеля *Rht8c* та наші дані (Чеботар та ін.. 2012), вважаємо що історично алель *Ppd-D1a* був перенесений в сорти української селекції разом з алелем короткостебловості *Rht8c* від японського сорту Акакомугі, в якості зчепленого блоку генів на хромосомі 2D, в середині минулого століття через сорт Безоста 1. Такий комплекс алелів має агрономічні переваги при вирощуванні сортів в Південних регіонах України.

За даними Addisu et al. (2009), що підтверджують дані інших дослідників Li et al. (2002) та Foulkes et al. (2004), спостерігається асоціація *Ppd-D1a* з силою проростання зерна та підвищенням продукції ранньої біомаси, а також зі зменшенням продуктивної кустистості та кількості колосків в колосі (Worland et al., 1994; Worland, 1996; Dyck et al., 2004). При вирощуванні ярих сортів в регіонах з більш прохолодними та вологими погодними умовами, які не обмежують продуктивність рослин раптовим настанням посухи або дією високих температур в період цвітіння-дозрівання, можливо не спостерігається агрономічних переваг, які супроводжують наявність *Ppd-D1a* алеля в умовах з більш теплим кліматом. Так, наприклад, в умовах Великої Британії переваги за врожаєм, які надає *Ppd-D1a* алель можуть варіювати від +9% у більш теплий та сухий сезон, до –8% при типовому прохолодному та вологому літі (Worland et al., 1996).

Висновки

Встановлено алельний стан локусу *Ppd-D1* для 27 сортів ярої пшениці з колекції НЦГРРУ, 11 сортів озимої пшениці України, а також для 33 сортів з колекції ІЦіГ (м. Новосибірськ, РФ).

Сорти озимої пшениці створені на півдні України з кінця 60-х років ХХ століття і до сьогодні характеризуються алелем *Ppd-D1 a*. У 7 з 27 сортів ярої пшениці придатних до поширення в Україні детектували алель *Ppd-D1a*. Сорти Рання-93 та Недра були гетерогенними за генним локусом, що аналізується. В той же час з заявлених сортів ярої пшениці (18 сортів) характеризувалися алелем *Ppd-D1b*. Ярі сорти пшениці з колекції ІЦіГ мають *Ppd-D1b* алель, який надає рослинам чутливість до фотоперіоду. Згідно отриманих даних в сортах ярої пшениці як України так і РФ найбільш поширеним є алель чутливості до фотоперіоду *Ppd-D1b*.

Робота виконана в рамках проекту Ф-40/94–2011 «Молекулярно-генетичний аналіз поліморфізму генів, які контролюють ріст, розвиток та чутливість до фотоперіоду, серед російських та українських сортів м'якої пшениці» Міжнародного співробітництва між Україною та Російською Федерацією.

Література

1. Beales J., Turner A., Griffiths S. et al. A Pseudo-Response Regulator is misexpressed in the photoperiod insensitive *Ppd-D1a* mutant of wheat (*Triticum aestivum* L.) // Theor. Appl. Genet. — 2007. — Vol. 115. — P. 721–733.
2. Wilhelm E., Turner A., Laurie D. Photoperiod insensitive *Ppd-A1a* mutations in tetraploid wheat (*Triticum durum* Desf.) // Theor. Appl. Genet. — 2009. — Vol. 118. — P. 285–294.
3. Guo Z., Song Y., Zhou R., Ren Z., Jia J. Discovery, evaluation and distribution of haplotypes of the wheat *Ppd-D1* gene // New Phytologist. — 2010. — Vol. 185. — P. 841–851.
4. Huang L. Wang Q., Zhang L., Yuan Z., Wang J., Zhang H., Zheng Y., Liu D. Haplotype variations of gene *Ppd-D1* in *Aegilops tauschii* and their implications on wheat origin // Genet. Resour. Crop. Evol. — 2011. — Springer published online: DOI 10.1007/s10722-011-97412.
5. Worland A. J., Borner A., Korzun V., Li W. M., Petrovic S., Sayers E. J. The influence of photoperiod genes to the adaptability of European winter wheats // Euphytica. — 1998. — Vol. 100. — P. 385–394.
6. Мутерко О. Ф., Балашова І. А. Використання мультиплексної STS-PCR для детекції генотипів *Ppd-D1* в сортах пшениці // 2 Міжнародна наукова конференція «Регуляція росту рослин: фізіологічні, біохімічні та генетичні аспекти» (11–13 жовтня, 2011.). — Харків, 2011. — С. 81–82.
7. Чеботар Г. О., Чеботар С. В., Моцний І. І., Сиволап Ю. М. Уточнення ступеню зчеплення генів *Rht8* та *Ppd-D1* на 2D хромосомі озимої м'якої пшениці // Цитологія та генетика. — 2012. — у друку.
8. Балашова І. А., Мутерко А. Ф., Файт В. И., Балашов П. Д., Сиволап Ю. М. Использование мультиплексной ПЦР для детекции *Ppd-D1* генотипов пшеницы // Abstracts of International Scientific and Practical Conference «Modern biotechnology of agricultural plants and biosafety» (Plant Genome VI) Institute of Viticulture and Wine-making named after V. Ye. Tairov (7–10 September, 2010). — Odessa, 2010. — P. 36.
9. Worland A. J., Korzun V., Röder M. S., Ganai M. W., Law C. N. Genetic analysis of the dwarfing gene *Rht8* in wheat. Part II. The distribution and adaptive significance of allelic variants at the *Rht8* locus of wheat as revealed by microsatellite screening // Theor. Appl. Genet. — 1998. — Vol. 96. — P. 1110–1120.
10. Addisu M., Snape J. W., Simmonds J. R., Gooding M. J. Reduced height (*Rht*) and photoperiod insensitivity (*Ppd*) allele associations with establishment and early growth of wheat in contrasting production systems // Euphytica. — 2009. — Vol. 166. — P. 249–267.
11. Li W., Nelson J. C., Chu C. Y., Shi L. H., Huang S. H., Liu D. J. Chromosomal locations and genetic relationships of tiller and spike characters in wheat // Euphytica. — 2002. — Vol. 125. — P. 357–366.
12. Foulkes M. J., Sylvester-Bradley R., Worland A. J., Snape J. W. Effects of a photoperiod-response gene *Ppd-D1* on yield potential and drought resistance in UK winter wheat // Euphytica. — 2004. — Vol. 135. — P. 63–73.
13. Worland A. J., Appendino M. L., Sayers E. J. The distribution, in European winter wheats, of genes that influence ecoclimatic adaptability while determining photoperiodic insensitivity and plant height // Euphytica. — 1994. — Vol. 80. — P. 219–228.
14. Worland A. J. The influence of flowering time genes on environmental adaptability in European wheats // Euphytica. — 1996. — Vol. 89. — P. 49–57.

15. Dyck J. A., Matus-Cadiz M. A., Hucl P., Talbert L., Hunt T., Dubuc J. P., Nass H., Clayton G., Dobb J., Quick J. Agronomic performance of hard red spring wheat isolines sensitive and insensitive to photoperiod // Crop Sci.— 2004.— Vol. 44.— P. 1976–1981.

Резюме

Аналізували алельний стан гена *Ppd-D1*, який контролює чутливість до фотоперіоду у 71 сорту ярої та озимої пшениці України, Російської Федерації та Казахстану. Показано, що 67% ярих сортів придатних до поширення в Україні та всі досліджені ярі сорти отримані з колекції ІЦіГ характеризуються *Ppd-D1b* алелем. Озимі сорти пшениці України, досліджені в роботі, створені після 1968 року характеризуються *Ppd-D1a* алелем.

Анализировали аллельное состояние гена *Ppd-D1*, который контролирует чувствительность к фотопериоду у 71 сорта яровой и озимой пшеницы Украины, Российской Федерации и Казахстана. Показано, что 67% яровых сортов, пригодных для распространения в Украине и все исследованные яровые сорта полученные из коллекции ИЦиГ характеризуются аллелем *Ppd-D1b*. Озимые сорта пшеницы Украины, исследованные в работе, созданные после 1968 года характеризуются *Ppd-D1a* аллелем.

The alleles of *Ppd-D1* photoperiod insensitive gene were analyzed among 71 winter and spring wheat varieties from Ukraine, Russian Federation and Kazakhstan. 67% of spring wheat varieties that are registered in Ukraine and all investigated spring wheat varieties from the collection of ICG were characterized by *Ppd-D1b* allele. Ukrainian winter wheat varieties created after 1968 year investigated in our work have *Ppd-D1a* allele.

ШИХЛИНСКИЙ Г. М., МАМЕДОВА Н. Х., АКПЕРОВ А. И.

Институт Генетических Ресурсов НАН Азербайджана,
Азербайджан, 1106, Баку, пр. Азадлыг 155,
e-mail: sh.haci@yahoo.com

ГЕТЕРОЗИСНЫЙ ЭФФЕКТ ОИДИУМОУСТОЙЧИВОСТИ ГИБРИДОВ ВИНОГРАДА ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ (F₁)

Азербайджанская республика является одним из крупнейших промышленных районов производства винограда и продуктов его переработки. За короткий срок площадь виноградников увеличилась в 2,2 раза, а производство винограда в 6 раз, достигнув 2123 тыс. тонн. Урожайность виноградников в целом по республике выросла за этот период с 38,5 до 101,9 ц/га.

Выведение и внедрение в производство новых сортов винограда, пригодных для корнесобственного возделывания, не требующих укрытия на зиму, а также устойчивых к основным грибным заболеваниям, позволяющих значительно сократить количество химических обработок, с хорошим качеством ягод — является важнейшей проблемой в виноградарстве.

Анализ многочисленных теоретических и экспериментальных материалов по изучению новых комплексноустойчивых сортов советскими и за-

рубежными селекционерами свидетельствует о том, что несмотря на определенные сложности, до настоящего времени межвидовая гибридизация является одним из наиболее перспективных методов в селекции по выведению новых высококачественных сортов с комплексной устойчивостью и, как показали данные последних лет, именно этот метод привел исследователей к положительным результатам [1].

Успех иммуноселекционного процесса, направленного на создание комплексно-устойчивых к болезням, вредителям и неблагоприятным условиям среды новых сортов винограда, определяется правильным подбором исходных форм при гибридизации. Основой для такого подбора следует считать комбинационную ценность сортов, установленную в процессе изучения закономерностей наследования признаков комплексной устойчивости или устойчивости к отдельным болезням, вредителям и неблагоприятным условиям среды [2].

Оидиум — вредоносное грибное заболевание винограда, завезенное в Европу из Америки и впервые обнаруженное в 1845 году в Англии, через два года во Франции, затем болезнь очень быстро распространилась во всех виноградарских районах Италии, Австрии и других стран. Возбудитель — *Uncinula necator* Burtill (сумчатая стадия), *Oidium tuckeri* (конидиальная стадия). В США — родине паразита — оидиум распространен на всех виноградарских, особенно сильно в Калифорнии. В России оидиум впервые был обнаружен в 1852 году в Бессарабии, в 1884 году — на Кавказе.

В исследованиях генетики признаков устойчивости на гибридных поколениях семян европейско-амурского и европейско-американского происхождения было показано, что признак устойчивости к милдью, как и признак устойчивости к оидиуму, контролируется моногенно, независимо друг от друга, а также независимо от других признаков [3, 4].

Подавляющее большинство американо-европейских гибридов и сорта *Labrusca* обладают высокой устойчивостью к милдью и оидиуму. Среди азиатских видов слабо поражается *V. amurensis*. У вида *V. vinifera*, к которому относятся все европейские сорта винограда, имеются значительные различия в чувствительности к оидиуму от сильновосприимчивых до высокоустойчивых к этому заболеванию сортов, чего мы не наблюдали в отношении милдью [5].

Материалы и методы

Для наших исследований взяли сеянцы F₁ от 35 комбинаций скрещивания, в основном сложных межвидовых гибридов с высоким качеством урожая, обладающих комплексной устойчивостью, а также от скрещивания сложных межвидовых гибридов, обладающих различной оидиумоустойчивостью с сортами евроазиатского винограда (*V. vinifera* L.), отличающихся толерантностью, слабой и сильной восприимчивостью к болезням, обладающие, однако высоким качеством урожая. Для изучения взяты следующие группы скрещивания:

1. Устойчивые х устойчивые
2. Устойчивые х толерантные
3. Устойчивые х восприимчивые
4. Толерантные х устойчивые
5. Толерантные х восприимчивые
6. Слабовосприимчивые и восприимчивые х устойчивые
7. Слабовосприимчивые и восприимчивые х толерантные

Фитопатологическая оценка исходных родительских пар и гибридов первого поколения (F₁) проводили по разработанной лабораторией иммунитета Молдавского НИИСВ и в лабораторно-полевой методике по пятибалльной шкале [5, 6]. Гетерозисный эффект оидиумоустойчивости гибридов винограда первого поколения (F₁) проводили по формуле Л. Зенищевой [7].

Результаты и обсуждение

Изучение гетерозисного эффекта признака оидиумоустойчивости в потомстве F₁ показал, что данный признак резко отличается как между отдельными группами, так и в пределах групп скрещиваний (табл.).

Анализ гетерозиса оидиумоустойчивости F₁ при скрещивании устойчивых материнских компонентов с устойчивыми отцовскими свидетельствует о том, что во всех комбинациях гетерозисный эффект выражен значительно. Коэффициент гетерозиса по группе колеблется от $G = -33,33\%$ (XV-14-11 х XV-10-73) до $G = 64,66\%$ (XV-21-13 х Сапериави). Это значит, что в данных комбинациях гибридные сеянцы формируются менее устойчиво, чем лучший родительский сорт по оидиумоустойчивости. В комбинации скрещивания XV-19-17 х V-101-10 коэффициент гетерозиса имеет отрицательную величину, следовательно гетерозисный эффект довольно высокий.

В группе скрещиваний устойчивых материнских форм с толерантными отцовскими (2 балла х 3 балла) гетерозисный эффект, как и в предыдущей группе выражен довольно значительно. В целом по группе коэффициент гетерозиса оидиумоустойчивости колеблется от $G = -12\%$ (XI-60-43 х XI-38-92) до $G = 40\%$ (CB-12-375 ч Агостенга). В трех комбинациях (XI-38-55 х Марсельский черный ранний, XI-60-43 х XI-38-92 и XI-47-114 х Агостенга) наблюдается отрицательное отклонение признака оидиумоустойчивости и это значит, что все три комбинации могут давать гетерозисные растения по этому признаку, но с разным превышением родителей по устойчивости. В двух семьях этой группы коэффициент гетерозиса значительно высокий ($G = 26,5\%$ и $G = 40\%$).

При скрещивании устойчивых материнских форм с восприимчивыми европейскими сортами наблюдаются очень низкие показатели гетерозисного эффекта, от $G = 2\%$ до $G = 1,3\%$. По этим величинам можно судить о том, что в данной группе практически гетерозис очень низкий, но с наличием устойчивых особей.

Гетерозис оидиумоустойчивости в F₁ при различных типах скрещиваний

Комбинации скрещивания	Средний балл устойчивости		Гетерозис G, в %
	F	F ₁	
Устойчивые х устойчивые			
XV-21–13 х СВ-12–375	1,5	2,42	61,33
XV-21–13 х СВ-12–375 свободного опыления	1,5	1,83	22,0
XV-13–12 х Пламенный	1,5	2,11	40,6
XV-21–13 х Сапери	1,5	2,47	64,66
XV-14–11 х XV-10–73	1,5	2,0	-33,33
XV-19–17 х V-101–10	1,5	1,79	19,4
Устойчивые х толерантные			
XI-38–55 х Маршал Фош	2,5	2,53	26,53
СВ-12–375 х Фетяска регала	2,5	2,59	3,6
СВ-12–375 х Агостенга	2,5	3,5	40,0
XI-38–55 х Марсельский черный-ранний	2,5	1,85	-26,0
XI-60–43 х XI-38–92	2,5	2,2	-12,0
XI-47–114 х Агостенга	2,5	1,95	-22,0
Устойчивые х восприимчивые			
СВ-12–375 х Пино гри	3	2,94	2,0
СВ-12–375 х Греческий розовый	3	2,61	-13,0
СВ-12–375 х Фетяска мускатная	3	3,06	2,0
V-102–53 х Мускат темно-синий ранний	3	3,0	0
Толерантные х устойчивые			
Клерет х XI-18–43	2	2,68	-34,0
V-105–65 х XI-39–40	2	2	0
V-83–3 х XV-37–52	2,5	2,48	0,8
V-83–3 х Мугурел	2,5	1,65	34,0
XI-37–17 х V-93–23	2,5	2,67	-6,08
Толерантные х восприимчивые			
СВ-18–315 х Мускат темно-синий ранний	3,5	2,2	37,1
V-95–1 х XII-58–90	3,5	2,05	41,42
Слабовосприимчивые и восприимчивые х устойчивые			
Купрашвили сеули х XV-18–14	2,25	2,59	-15,11
Купрашвили сеули х XV-18–29	2,25	2,93	-30,22
Купрашвили сеули х XV-19–66	2,25	2,83	-25,77
Ркацителли х СВ-12–375	2,25	3,56	-58,22
Греческий розовый х XV-18–31	2,5	3,12	-24,8
Греческий розовый х XIV-18–28	2,5	2,89	-15,6
Слабовосприимчивые и восприимчивые х толерантные			
Купрашвили сеули х XIV-28–27	3,25	3,08	5,23
XI-22–54 х XV-12–59	3,5	2,35	32,85
V-97–1 х Иския	3,5	2,04	41,71

В группе скрещиваний толерантных материнских компонентов с устойчивыми отцовскими компонентами из пяти комбинаций в двух показатели гетерозисного эффекта довольно высокий (V-33–3 x Мугурел G = 34 %, Клерет x XV-18–43 G = –34 %) и это значит, что данные комбинации дают гетерозисные растения по признаку оидиумоустойчивости. Причем, в одном случае, в сторону понижения, а в другом в сторону повышения устойчивости. А в остальных комбинациях этот показатель очень низкий.

Результаты анализов в группах скрещиваний толерантных материнских форм с восприимчивыми отцовскими и восприимчивых материнских форм с толерантными отцовскими показали, что в четырех комбинациях гетерозис имеет значительную величину, в сторону преобладания устойчивых семян.

В комбинациях скрещивания по типу «восприимчивые x устойчивые» и «восприимчивые x толерантные» гетерозис в целом незначительный, но в некоторых случаях с чувствительным преобладанием устойчивых особей, что свидетельствует о возможности отбора по данному признаку с использованием указанного типа комбинаций скрещивания.

Выводы

В потомстве F₁ от скрещиваний различных по степени устойчивости родительских компонентов величина коэффициента гетерозисного эффекта колеблется в широких пределах с тенденцией к промежуточному доминированию с отрицательным знаком, что свидетельствует о возможности проведения эффективного отбора по признаку оидиумоустойчивости.

Литература

1. Акперов А. И. Наследование признаков устойчивости винограда к филлоксеры и основным грибным болезням в потомстве F₁ от скрещиваний сложных межвидовых гибридов // Дисс. ... к. с.х. наук. — Кишинев. — 1990. — 181 с.
2. Усатов В. Т., Голодрига П. Я. Оценка филлоксераустойчивости сортов винограда различных эколого-географических групп по потомству F₁ // Генетика и селекция винограда на иммунитет. — Киев: Наукова Думка. — 1978. — С. 102–113.
3. Штин Л. Т. Создание доноров устойчивости к милдью и оидиуму для селекции интенсивных сортов винограда // Генетические основы селекции на иммунитет плодовых, ягодных культур и винограда. — Мичуринск. — 1987. — С. 79–87.
4. Филиппенко И. М., Штин Л. Т., Филиппенко Л. И. Результаты и перспективы селекции винограда на комплексную устойчивость // Перспективы генетики и селекции винограда на иммунитет. — Киев: Науково Думка. — 1988. — С. 77–83.
5. Войтович К. А. Новые комплексноустойчивые столовые сорта винограда и методы их получения. — Кишинев: Картя Молдовеняскэ. — 1987. — 225 с.
6. Новые методы фитопатологических и иммунологических исследований в виноградарстве (под ред. д.б.н. проф. П. Н. Недова). — Кишинев: Штиинца. — 1985. — 138 с.
7. Зенищева Л. Наследуемость количественных признаков, определяющих устойчивость растений к полеганию // Сельскохозяйственная биология. — 1968. — Т. 3. № 5. — С. 790–794.

Резюме

Был изучен гетерозисный эффект оидиумоустойчивости гибридов первого поколения (F₁), полученных в результате скрещивания родительских пар, отличающихся различной устойчивостью к патогенам. В результате исследования, среди полученных гибридов винограда, были выявлены формы с положительным, отрицательным и промежуточным гетерозисным эффектом, а также равным нулю.

The degree heterosis effect oidium resistance hybrids of the first generation (F₁), the parental pairs received as a result of crossing distinguished by various stability to pathogen has been investigated. As a result of research, among the received hybrids of a grapes, forms with a positive, negative and intermediate degree of heterosis, and also equal to zero have been revealed.

**ШПИЛЬЧИН В. В.¹, РЬОДЕР М.², БЬОРНЕР А.², АНТОНЮК М. З.¹,
ТЕРНОВСЬКА Т. К.¹**

¹ Національний університет «Києво-Могилянська Академія» МОН України,
Україна, 04070, Київ, вул. Г. Сковороди, 2, e-mail: tern@ukma.kiev.ua

² Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK)
Corrensstraße 3 D-06466 Stadt Seeland, OT Gatersleben

ГЕНЕТИЧНА НЕСТАБІЛЬНІСТЬ ПОХІДНИХ *TRITICINAE* ІЗ ШТУЧНИМ ГЕНОМОМ

Представники злаків підтриби *Triticinae* можуть мати на поверхні епідермісу шар воску, який називається восковою осугою і надає рослині блакитного відтінку, або не мати його. Такі рослини виглядають яскраво-зеленими. Розвиток осуги пов'язаний з експресією кількох генів. Серед них є промотори утворення осуги, це гени *W1* та *W2*, розташовані на хромосомі 2 BS та 2 В, відповідно, та ген *Ws*, локалізований на хромосомі 1BL. Гени *Iw1*, *Iw2* та *Iw3* є епістатичними інгібіторами воскової осуги, розташованими на 2 В, 2D та 1 BL, відповідно [1, 2]. *Iw3* забезпечує формування рослин з зеленим колосом та листям з восковою осугою [2]. Серед штучних гексаплоїдів *Triticinae*, а також серед отриманих від них пшеничних ліній з чужинними вклученнями хроматину спостерігали мінливість за описаною ознакою. Яскравою особливістю цієї мінливості була зміна виразу ознаки у генераціях від зеленої (немає осуги) до блакитної. Можливість Perezapisleniya та розщеплення гетерозигот повністю відкидається [3]. У статті наведено результати вивчення геномно-заміщеної форми Авротика.

У даній статті представлена характеристика амфідиплоїдів, контрастних за ознакою воскова осуга, щодо можливих перебудов у хромосомах 2 В та 2D, встановлених за допомогою мікросателітного аналізу, та результати дослідження спектру гліадинових білків. Також надані результати гібридологічного аналізу штучних амфідиплоїдів та їхніх нащадків.

Матеріал та методика

Рослинний матеріал: гексаплоїд Авротика (AABVTT), отриманий як штучний амфідиплоїд між тетраплоїдним компонентом AABV пшениці Аврора та диплоїдним видом *Aegilops mutica*; гібриди F₁ та F₂ від схрещування рослин Авротики з різним проявом ознаки.

ДНК виділяли за методикою на основі СТАБ буферу. З виділеною ДНК проводили полімеразно-ланцюгову (ПЛР) реакцію з праймерами мікросателітних локусів, специфічних до 2В (9 SSR-локусів) та 2D (19 SSR-локусів) хромосом (табл. 2). Реакційна суміш об'ємом 25 мкл містила 250 нМ кожного праймеру відповідного локусу, 50 нг ДНК, 0,2 мМ кожного dNTP; 1,5 мМ MgCl₂; 1,2 од. Taq-полімерази (Fermentas) у рекомендованому виробником буфері. Проводили 30 циклів у рекомендованому оригінаторами SSR-локусів режимі. Аналіз продуктів ампліфікації здійснювали за допомогою пристрою ALFexpress (Amersham Bioscience).

Результати та обговорення

Перш, ніж обговорювати результати гібридологічного аналізу (табл. 1), потрібно визначитися щодо очікуваних результатів. Джерело субгеному AABV Авротики, сорт Аврора вкритий восковою осугою. Отже, її геном включає принаймні один із домінантних генів-промоторів воскової осуги на хромосомах 1В чи 2В і не має жодного епістатичного гена-інгібітора. Щойно створений амфідиплоїд Авротика мав зелений колір, тобто воскова осуга була відсутня. Отже зелений егілопс у своєму геномі Т має інгібітор осуги, гомологічний, очевидно, пшеничним генами *Iw1*, *Iw2*. Амфідиплоїд AABVTT одразу розщепився на три морфологічно різні форми: Авротика 1, яка нічим не відрізнялася від ініціального амфідиплоїда, Авротика 3 з більш рихлим колосом та Авротика 2, яка на відміну від Авротики 1 характеризувалась зеленим колосом з остеподібними відростками та блакитним листям. За даними [2], за формування такого фенотипу, зелений колос

Таблиця 1

Результати гібридологічного аналізу Авротики за ознакою наявності/відсутності воскової осуги

Комбінація схрещування та характеристика компонентів	Фенотип F ₁	Розщеплення у F ₂		
		зелених	бакитних	зелено-блакитних
1. Авротика 1 (зел.) х Аврора (бл.)	зелені	5	7	
2. Авротика 1 (зел.) х Авротика 2 (бл.)	зелені	49	4	5
3. Авротика 1 (зел.-бл.) х Авротика 2 (зелена)	зелені	50	0	20
4. Авротика 2 (бл.) х Авротика 1 (зел.)	зелені	45	4	5
5. Авротика 2 (бл.) х Авротика 2 (зелено-блакитна)	блакитні	0	7	15
6. Авротика 2 (зел.-бл.) х Авротика 2 (блакитна)	зелено-блакитні	0	13	29

на блакитному стеблі, відповідає домінантний інгібітор *lw3*, локалізований на хромосомі 1 В пшениці. Оскільки більшість сортів пшениці, хоча й не всі, характеризуються повністю блакитними рослинами, принаймні сорт Аврора саме такий, в їхніх генотипах цей ген представлений рецесивним алелем. За нашими багаторічними спостереженнями, таким фенотипом щодо воскової осуги характеризуються всі чужинно-заміщені лінії пшениці, в яких хромосома 1D заміщена гомеологом *Ae. umbellulata* *Ae. speltoides* [4]. Всі три форми Авротики є стабільно гексаплоїдними. Саме в Авротиці 2 за кілька генерацій серед рослин з зеленим колосом та блакитним листям почали з'являтися повністю блакитні рослини, тобто і колос і листя були вкриті восковою осугою. Блакитні рослини залишалися константними у поколіннях, а серед зелено-блакитних рослин у кожній генерації продовжували з'являтися блакитні форми.

Оскільки вищеплювалися рослини з рецесивним генотипом, природно було припустити, що відбулося перезаплення Авротики з носіями рецесивних алелів інгібіторів осуги, а такими носіями є сорти м'якої пшениці. Проте це припущення не має під собою підстав, оскільки гібриди між Авротикою та м'якою пшеницею утворюються тільки при штучному заплідненні і гібриди F_1 , по-перше, добре відрізняються як від Авротики, так і від м'якої пшениці, по-друге, є майже самостерильними (див. табл. 1, комбінація 1). Отже, домінантний інгібітор воскової осуги *lw3* Авротики 2, розташований у геномі Т, зазнав якоїсь зміни. Простіше всього було припустити, що відбулася мутація в цьому геномі. Тоді серед гібридів F_2 від схрещування рослин, альтернативних за ознакою, слід очікувати співвідношення розщеплення 3 зелено-блакитне: 1 блакитне. Реальне розщеплення було 2 зелено-блакитних: 1 блакитне (табл. 1, комбінації 5 та 6). Пояснити це можна зареєстрованою нами нестабільністю зелено-блакитних форм. Частина рослин, які мали б бути зелено-блакитними, ставали блакитними, тобто процес вищеплення блакитних форм із зелено-блакитних у гібридних популяціях продовжувався. Набагато пізніше, за 8–10 років, повністю блакитні рослини та блакитні рослини з зеленим колосом стали з'являтися серед зелених рослин Авротики 1, причому рідше, ніж блакитні серед зелено-блакитних рослин Авротики 2. За іншими доступними для візуальної оцінки ознаками морфології, фізіології, а також деякими біохімічними генами (крім гліадинових) рослини з різними градаціями ознаки воскова осуга не відрізнялися одна від однієї [3]. Блакитна форма амфідіплоїда є константною, зелено-блакитні та зелені кожної генерації вищеплюють блакитні рослини. Гібридологічний аналіз з застосуванням F_2 від схрещування контрастних форм (табл. 1) показав наступне. Якщо брати до розгляду між-алельну взаємодію (комбінації 2, 4, 5, 6), очевидно, що наявність воскової осуги є ознакою рецесивною. Виключенням для такого висновку є лише комбінація 5, коли при схрещуванні блакитних та зелено-блакитних рослин гібриди F_1 виявилися блакитними. За нашою думкою, це є прямим наслід-

ком процесу вищеплення блакитних рослин у генерації, яка має складатися із рослин зелено-блакитних. В цих комбінаціях, судячи з компонентів схрещування, розщеплення має відбуватися за одним геном, причому геному Т, оскільки частина АВ у всіх Авротик однакова. Для комбінацій 5 та 6 це має бути ген хромосоми 1 Т, для комбінацій 2 та 4 — ген хромосоми 2, якщо спиратися на гомеологію серед представників *Triticinae*. Комбінація 3 дає змогу судити про міжгенну взаємодію генів, що впливають на вираз ознаки воскова осуга. Виходить, що ген — інгібітор розвитку осуги є епістатичним для будь якого гена, у хромосомі 1 чи 2-ої гомологічних груп, який сприяє розвитку осуги повністю на рослині чи тільки на її вегетативних органах. Гіпостатичний характер ознаки підтверджується також результатами, отриманими на комбінації 1. Судячи з розщеплення у комбінаціях 2 та 4, в ньому беруть участь два гени. Дійсно, поява зелено-блакитних рослин свідчить про те, що в розщепленні бере участь ген з хромосоми 1 Т, а пара контрастних градацій зелені рослини — блакитні рослини з'являється, якщо розщеплення відбувається за геном 2-ої.

Проте скільки б ми не виконували гібридологічний аналіз, його результати не можуть пояснити причину зміни прояву ознаки у поколіннях, тому що незрозумілим залишається джерело появи серед рослин генерацій амфідиплоїдів рослин зі зміненим фенотипом в той час, коли природна гібридизація між Авротиною та м'якою пшеницею, потенційним джерелом рецесивних алелів зазначених генів, не відбувається. Дослідження молекулярно-генетичного рівня змін, які відбуваються у геномі та є чинником зміни прояву ознаки у генераціях ми розпочали з вивчення можливого поліморфізму за локусами мікросателітів, специфічних для хромосом 2D та 2 В пшениці. Виходячи з геномної структури Авротики, джерелом генів — інгібіторів воскової осуги є субгеном Т, і зміни мають відбуватися саме в ньому. Проте для цього геному не розроблено специфічних SSR-локусів, тому ми використали локуси, специфічні для В та D геномів, сподіваючись на закони гомологічних стосунків між хромосомами підтрибі *Triticinae*.

З шести SSR-локусів, специфічних до хромосоми 2 В, продуктів ампліфікації не було отримано з праймерами лише за одним локусом, Wms 6822B, хоча хромосома 2 В у геномі Авротики у наявності. З праймерами локусів, специфічних до хромосоми 2D теоретично ми взагалі не мали отримати продуктів ампліфікації, адже Авротика генома D не має. Насправді продуктів не було отримано для 7 локусів (Wms 30, Wms 249, Wms 261, Wms 4842D, Wms 5392D, Wms 5642D Wms 1099) з 16 перевірених. Це свідчить про геномну неспецифічність таких локусів, хоча й не дає інформації про те, хромосома 2 якого саме генома має комплементарні ділянки для посадки праймерів. З тих локусів, праймери яких дали продукти ампліфікації поліморфними для генотипів, які вивчалися, виявилися лише 5 (табл. 2). Локуси Barc 7, Barc 13, Barc 140, 2B Wms 37, Wms 296, Wms 455,

Таблиця 2

Поліморфізм вивчених генотипів за SSR-локусами, специфічними для хромосом 2-ої гомеологічної групи

SSR-локус та його хромосомна специфічність	Розмір продукту ампліфікації (пн.)			
	Аврора	Авротика 1	Авротика 2 зелено-блакитна	Авротика 2 блакитна
Barc 142 2D	268	272	266	266
Barc 167 2B	252	252	259	259
Wms 102 2D	188	201	196	196
Wms 429 2B	207	207	205	205
Wms 702 2D	Немає	Немає	138	140
Wms 815 2D	218	207	218	218

Wms 614, Wms 661, Wms 721, Wms 886, Wms 972, Wms 988, Wms1024 виявилися мономорфними.

Однозначно інтерпретувати результати таблиці 2 не можна саме через те, що не можна відстежити геномну специфічність застосованих локусів. Проте ці дані все одно дуже цікаві. Порівняння результатів, отриманих для генотипу Аврора та Авротики 1, зелена, показує, що між їхніми геномами немає різниці щодо локусів SSR-локусів хромосоми 2 В. Проте для обох локусів існує різниця між генотипом Аврори і Авротики 1, з одного боку, та геномами Авротики 2, з іншого. Отже, ми констатуємо наявність якоїсь зміни на хромосомі 2 В, хоча, безумовно, не маємо доказів того, що вона має відношення до генів *W*. Щодо SSR-локусів, специфічних до хромосоми 2D, різниця існує між генотипом Аврора та всіма Авротиками, крім Авротики 1 для локуса *Wms 815*. Це добре пояснюється тим, що Авротики замість генома D мають геном T. З іншого боку, для всіх трьох поліморфних локусів виявлено різницю між Авротикою 1 та Авротикою 2. Це показує, що при розщепленні вихідного амфідиплоїда на Авротику 1 та Авротику 2 у геномі відбулися якісь перебудови, які відбилися на кількості повторів в локусах, які були досліджені нами. Чи пов'язані геномні перебудови зі зміною експресії генів, що контролюють наявність/відсутність воскової осуги, поки не зрозуміло.

Висновок

Результати гібридологічного аналізу за участю геномно-заміщених форм Авротики з різним фенотипом щодо наявності/відсутності воскової осуги свідчать про моно- та дигенний контроль ознаки у різних комбінаціях схрещування та інформують про характер міжалельної та міжгенної взаємодії. Мікросателітний аналіз з використанням локусів, специфічних до хромосом 2-ої гомологічної групи хромосом не дав підстави для жодних припущень про механізм зміни прояву ознаки у генераціях штучного амфідиплоїда.

Література

1. McIntosh R. A. Catalogue of gene symbols for wheat. <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/symbolClassListAction.do; jsessionid=F54FF94AC5CB6B149335AA526372A781.lb1?geneClassificationId=183>.

2. Tsunewaki K. Production of near-isogenic lines of common wheat for glaucousness and genetic basis of this trait clarified by their use / K. Tsunewaki, K. Ebana // *Genes and Genetic Systems*. — 1999. — Vol. 74. — P. 33–41.

3. Шпильчин В. В. Фенотипний поліморфізм за ознакою воскова осуга серед представників підтриби *Triticinae* / Шпильчин В. В. Антонюк М. З., Терновська Т. К. // *Наукові записки НаУКМА*. — 2010. — Т. 106, Біологія та екологія. — С. 3–8.

4. Терновська Т. К. Перебудова геному м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.) для її генетичного аналізу та інтрогресії генів. — Дис. доктора біол. наук. — К. — 1999. — 417 с.

Резюме

Гибридологический анализ геномно-замещенных форм Авротики с альтернативным проявлением признака наличие/отсутствие воскового налета позволил установить для этого признака число генов, межallelельное и межгенное взаимодействие. Микросателлитный анализ с праймерами локусов, специфичных к хромосомам 2-й гомеологической группы, не выявил причины внезапного изменения проявления признака в последовательных поколениях амфидиплоида.

Gene number, allelic and gene interaction for the character glume glaucousness were ascertained by hybridological analysis of genome substitution forms Aurótica. Microsatellite analysis with primers of loci that are specific for chromosomes of the 2nd homoeological group do not reveal causes of subitaneous change in character expression in sequential amphidiploids generations.

ЮДАНОВА С. С.¹, МАЛЕЦКАЯ Е. И.¹, МЕЛЕНТЬЕВА С. А.²

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН; Россия, Новосибирск,
пр. Лаврентьева 10; sonia@bionet.nsc.ru

² РУП Опытная научная станция по сахарной свекле НАН Беларуси,
222603, Минская обл., г. Несвиж, ул. Озерная, 1; e-mail: melenteva-s@mail.ru

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЧИСЛА ХЛОРОПЛАСТОВ У ГИБРИДОВ F_1 САХАРНОЙ СВЕКЛЫ

Покрытосеменные растения — это многоклеточные организмы, многие признаки которых определяются изменчивостью в клеточных популяциях. Изменение объемных размеров клеток косвенно свидетельствует и об изменении объема ядра — закон Рихарда Гертвига о постоянстве ядерно-плазменных отношений [1]. Несмотря на то, что увеличение числа хромосом приводит к увеличению объема ядра, между плоидностью ядра и объемом цитоплазмы прямая связь отсутствует. Клетки разных тканей по-разному реагируют на полиплоидию. Например, в полиплоидном ряду дурмана обыкновенного (*Datura stramonium*) при сравнении растений 1n, 2n, 3n, 4n, линейные размеры клеток эпидермиса возрастают в отношении 1:2:4:8; клетки ксилемы увеличиваются в несколько меньшей пропорции; тогда как тетраплоидные клетки паренхимы черенка в 8 раз крупнее диплоидных. В некоторых полиплоидных рядах, например, у очитка (*Sedum pulchellum*) размеры клеток увеличиваются пропорционально росту числа наборов хро-

мосом [2]. У тетраплоидных форм сахарной свеклы объем пыльцевых зерен почти в 3 раза больше, чем у диплоидных аналогов [3].

Следует отметить также, что миксоплоидия¹ клеточных популяций достаточно распространенное явление в растительном мире и сахарная свекла не является исключением. Более того, в семействе *Chenopodiaceae* было отмечено высокая частота встречаемости этого явления [Wuff H. D., 1936, цит. по 4]. Первые данные о миксоплоидии для рода *Beta* были представлены Сиротиной М. в 1932 г., а для сахарной свеклы (*Beta vulgaris*) — Харченко-Савицкой Е. И. в том же году [5]. Проведенные нами исследования свидетельствуют, что у диплоидных форм сахарной свеклы наблюдается широкая вариабельность по массе ДНК на ядро. Изменчивость прослеживается на разных стадиях клеточного цикла, а диапазон изменчивости зависит от исходного материала. В ходе митотического деления распределение ДНК между дочерними ядрами происходит не всегда симметрично. Имеет место также и многоядерность клеток [6,7,8]. Изучение клеток археспория у свеклы также показало высокий уровень вариации по содержанию ДНК [9]. Число хлоропластов — признак коррелирующий, как с объемом клеток, так и с плоидностью ядра. Положительные корреляции между объемом ядра и числом хромосом, с одной стороны, и числом хлоропластов в замыкающих клетках устьиц, с другой, использовали многие генетики и селекционеры сахарной свёклы для идентификации ди- и полиплоидных растений в экспериментах. Полиплоидия, с одной стороны, увеличивает линейные и объемные размеры клеток устьиц, а с другой, в замыкающих клетках устьиц полиплоидов содержится достоверно большее число хлоропластов, чем у диплоидов [10,11]. Это впервые в 1955 году установили японские исследователи Mochizuki и Sueoka. Согласно их данным, у диплоидов число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц варьировало от 12 до 16, у триплоидов от 17 до 22 и у тетраплоидов от 22 до 28 [12].

Материал и методы

В качестве материала были взяты гибриды F_1 различных селекционных фирм: *Борута*, *Флората*, *Триада*, *Сукрета* и *Сильвета* — Syngenta; *Леопард*, *Крокодил* — SES Vanderhave; *Вентура*, *Мандарин* — Danisko seed; *Золя*, *Берни*, *Модус*, *Ахат* — Strube; *Кларина* — KWS. Для подсчета числа хлоропластов в замыкающих клетках устьиц с нижней стороны листа снималась эпидерма, на которую наносили каплю раствора азотно-кислого серебра (AgNO_3) для окрашивания хлоропластов. От каждого образца брали 4–5 растений. Объем выборки (число просмотренных клеток) варьировал от 185 до 345 шт. на образец. Статистический анализ включал следующие параметры: а) среднее число хлоропластов на клетку (М); б)

¹ Миксоплоидия — явление, когда в клеточной популяции наряду с доминирующей фракцией клеток с основным числом хромосом, встречаются фракция с меньшим или большим числом хромосом в ядрах.

среднее значение биномиального распределения ($\bar{x}$) и дисперсия экспериментального ряда (σ^2); в) тип биномиального распределения — недорассеянное распределение (биномом с целым положительным показателем степени, $\sigma^2/\bar{x} < 1$); перерассеянное распределение (биномом с отрицательным или дробным показателем степени, $\sigma^2/\bar{x} > 1$).

Результаты и обсуждение

Изучение клеточных популяций с помощью хлоропластной методики показало, что число хлоропластов варьировало от 6–21 шт. на клетку у диплоидных и от 13–24 штук у триплоидного гибридов. Средние значения числа хлоропластов у диплоидов составила 11,96–15,56, а у триплоидного гибрида — 18,09 (табл. 1).

Таблица 1

Изучение клеточной популяции гибридов F_1 по числу хлоропластов в замыкающих клетках устьиц

Название гибридов	Направление селекции	Плоидность	Всего растений	Число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц*		
				$M \pm m$	σ^2	σ^2/x
Сильветта	E	2х	34	$11,96 \pm 0,21$	11,01	1,85
Крокодил	N	2х	29	$12,0 \pm 0,12$	3,38	0,85
Золзя	NZ	2х	30	$12,1 \pm 0,13$	4,02	0,98
Ахат	Z	2х	27	$12,75 \pm 0,86$	5,79	0,86
Кларина	Z	2х	40	$12,97 \pm 0,14$	4,60	0,77
Флората	N	2х	24	$13,02 \pm 0,12$	3,65	0,91
Триада	N	2х	22	$13,64 \pm 0,12$	3,46	0,95
Берни	Z	2х	34	$13,91 \pm 0,11$	3,43	1,18
Мандарин	Z	2х	34	$14,02 \pm 0,14$	5,08	0,84
Вентура	NE	2х	30	$14,41 \pm 0,14$	3,49	1,03
Модус	N	2х	32	$14,63 \pm 0,12$	3,58	0,64
Леопард	N	2х	33	$14,85 \pm 0,15$	4,33	0,89
Борута	NE	2х	30	$15,56 \pm 0,11$	3,26	0,72
Сукрета	Z	3х	26	$18,09 \pm 0,14$	4,81	0,94

*М — среднее число хлоропластов; m — ошибка среднего значения; σ^2 — дисперсия; x — среднее значение биномиального распределения.

Считается, что у растений степень накопления сахаров коррелирует с размером клетки. Размер клеток взаимосвязан с числом хлоропластов в замыкающих клетках устьиц. Следовало бы ожидать, что гибриды урожайного направления (E) будут иметь большее число хлоропластов и, соответственно, больший размер клеток по сравнению с гибридами сахаристого направления (Z). Исключив триплоидный гибрид «Сукрета» и, расположив гибриды по возрастанию относительно среднего значения, находим, что первое место (образец с наименьшим числом хлоропластов) занял гибрид «Сильветта» урожайного направления селекции (E). Это связано с высокой изменчивостью у этого образца ($\sigma^2 = 11,01$), что свидетельствует о *нестабильном состоянии его клеточных популяций*. Если обратиться к первич-

ным данным по каждому растению, то выяснится, что растения гибрида Сильветта гетерогенны: среднее значение варьировало от 8,88 до 16,7 шт. на клетку (табл. 2).

Таблица 2

Изменчивость числа хлоропластов в замыкающих клетках устьиц у гибрида Сильветта

№ раст.	Число клеток, N	Число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц*			
		$M \pm m$	$\bar{x}$	σ^2	$\sigma^2/\bar{x}$
1	50	$11,36 \pm 0,25$	2,36	3,17	1,34
2	50	$16,7 \pm 0,26$	2,7	3,39	1,26
3	50	$8,88 \pm 0,26$	2,88	3,41	1,19
4	50	$9,96 \pm 0,29$	2,96	4,08	1,38
5	50	$12,92 \pm 0,28$	2,92	3,87	1,33
<i>Всего</i>	250	$11,96 \pm 0,21$	5,96	11,01	1,85

*M — среднее число хлоропластов; m — ошибка среднего значения; σ^2 — дисперсия; $\bar{x}$ — среднее значение биномиального распределения.

Из-за такой нестабильности этот гибрид не стоит учитывать в дальнейшем рассмотрении экспериментальных данных. Далее этот список, согласно гипотезе, вначале состоял из образцов сахаристого и нормального направления, а последние места, т. е. более крупноклеточные образцы, занимали гибриды нормального и урожайного направлений. Что касается гибрида «Сукрета», показавшего наибольшее значение числа хлоропластов в замыкающих клетках устьиц, то это высокое значение связано с триплоидным набором хромосом в ядрах клеток у данного образца. Пloidность, как известно, увеличивает размеры клеток и соответственно число оргanelл в них.

Показатель $\sigma^2/\bar{x}$ свидетельствует о типе биномиального распределения. Если изменчивость какого-либо признака случайна, то его распределение оценивают как недорассеянное и оно описывается простым биномом (с целым положительным показателем степени — $\sigma^2/\bar{x} < 1$). А если вариация сочетается как случайную изменчивость, так и влияние дополнительных внутренних или внешних факторов, оказывающих влияние на этот признак, то его распределение носит название как перерассеянное и описывается отрицательным биномом (с отрицательным или дробным показателем степени и $\sigma^2/\bar{x} > 1$) [13, 14]. В нашем эксперименте клеточные популяции большинства (9 из 14) образцов описываются недорассеянным распределением (табл. 1). Следует отметить, что самый высокий показатель отношения (1,846) оказался именно у гибрида «Сильветта», который выбивается из основной массы образцов из-за нестабильности клеточных популяций. Изучение причин такой нестабильности предмет дальнейших исследований.

Выводы

1. Цитологическое исследование диплоидных гибридов сахарной свеклы свидетельствует, что у исследуемых образцов число хлоропластов варьировало от 11,96 до 15,56 штук на клетку.

2. Если клеточная популяция не подвержена в силу внутренних (увеличение плоидности или уровня миксоплоидности) и внешних причин большой изменчивости, то гибриды сахаристого направления имеют размер клеток наименьший, по сравнению с гибридами урожайного направления. Гибриды же N-направления могут располагаться между ними, а так же быть похожими на Z или E типы.

3. У триплоидного гибрида «Сукретта» число хлоропластов максимально (более 18 штук на клетку).

Настоящая работа выполнялась при финансовой поддержке гранта РФФИ 10-04-00697 а (2010–2012 гг.) и гранта Президиумов СО РАН и НАНБ № 3 (2012–2014 гг.).

Литература

1. Вермель Е. М. История учения о клетке. М: «Наука». — 1970. — 260 с.
2. Синют Э. Морфогенез растений. — М: «Иностранная Литература». — 1963. — 603 с.
3. Бормотов В. Е. Лопатина Т. И. Полиплоидия и полиморфизм растений по величине клеток. — Минск: «Наука и техника». — 1986. — 163 с.
4. Gentcheff G., Gustafson A. The double chromosome reproduction in spinacia and its causes. 1. Normal behaviour. Hereditas 1939 V. 25 (3). — P. 349–358.
5. Лусс А. И. Вегетативные мутации // Теоретические основы селекции растений. — М, Л. — Сельхозгиз, 1935. — Т. 1. — С. 215–292.
6. Maletskaya S. S. (1999) Content of DNA in telophase nuclei in gamo- and agamospermous inbred lines of *Beta vulgaris* L. // Apomixis Newsletter — 1999. — No.11. — P. 10.
7. Maletskaya E. I., Maletskaya S. S. The nuclear DNA mass variability in embryo root cells of sugar beet // Sugar Tech. — 1999. — Vol. 1 (1&2). — P. 30–36.
8. Юданова С. С. Миксоплоидия клеточных популяций сахарной свеклы и ее связь с репродуктивными признаками. Автореферат дисс. канд. биол. наук. — Санкт-Петербург, ВИР. — 2004. — 19 с.
9. Lukaszewska E., Sliwinska E. Most organs of sugar-beet (*Beta vulgaris* L.) plants at the vegetative and reproductive stages of development are polysomatic // Sexual plant reproduction. — 2007. — Vol. 20 (2). — P. 99–107.
10. Панин В. А., Панина Е. Б., Зосимович В. П., Лутков А. Н. Методика массового получения и отборов тетраплоидных форм сахарной свеклы. — К.: изд. АН УССР. — 1962. — 41 с.
11. Savitsky H. I. Effectiveness of selection for tetraploids plants in C_0 generation on the basis of the number of chloroplasts in stomata // American Society of Sugar Beet Technologists. — 1966. — Vol. 13 (8). — P. 655–661.
12. Mochizuki, A., N. Sueoka. Genetic studies on the number of plastid in stomata. I. Effects of autopolyploidy in sugar beets // Cytologia. — 1955. — Vol. 20. — P. 358–366.
13. Бреев К. А. Применение негативного биномиального распределения для изучения популяционной экологии паразитов. — Л.: Наука. — 1972. — 72 с.
14. Малецкий С. И. Биномиальные распределения в генетических исследованиях на растениях. — Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, НГАУ МСХ. — 126 с.

Резюме

В данной работе изучали изменчивость числа хлоропластов в замыкающих клетках устьиц у 14 F_1 гибридов сахарной свеклы. Этот признак коррелирует, как с объемом клеток, так и с плоидностью ядра. Если исключить образец нестабильный по изучаемому признаку, то среди диплоидных гибридов меньшее число хлоропластов и соответственно меньший размер клеток имеют гибриды сахаристого (Z) направления, по сравнению с гибридами урожайного (E) типа. Гибриды же N-направления могут располагаться между ними, а так же быть похожими на Z или E типы.

In the present paper a variability of chloroplast number in stomata guard cells was studied. The character correlates both with cell volume and nucleus ploidy. After elimination of unstable sample by studied character the diploid hybrids are distributed from Z-type hybrids with the lesser chloroplast number and as consequence the lesser cell size to E-type with greater chloroplast number. N-type hybrids are ranged between them and can be similar both Z- and E-type.

ЯНЧУК В.І., МАМАЛИГА В.С.

Вінницький національний аграрний університет,

Україна, 21008, м. Вінниця, вул. Сонячна, 3, e-mail: yavin1966@mail.ru

МІНЛИВІСТЬ ДЕЯКИХ МОРФО-БІОЛОГІЧНИХ ОЗНАК ЛЮЦЕРНИ ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК ІЗ КОРМОВОЮ ПРОДУКТИВНІСТЮ

Серед багаторічних бобових кормових культур важливе місце належить люцерні, яка є цінним джерелом рослинного білка для тваринництва і позитивно післядіє у сівозмінах завдяки здатності накопичувати біологічний азот в ґрунті і покращувати його санітарний стан.

Більшість господарських ознак люцерни є кількісними, тобто полігенними. тому селекціонеру доводиться мати справу в першу чергу з фенотиповою їх мінливістю і вирішувати завдання підвищення адаптивності генотипів і популяцій для конкретних умов.

Матеріали і методи

Вивчалось 18 сорторазків люцерни різного еколого — географічного походження на ділянках з шириною міжрядь 0,45 м, де визначали урожайність зеленої маси, сухої речовини і протеїну. В розсаднику одиночного розміщення рослин визначалась зимостійкість, значення 13 кількісних ознак, їх мінливість, повторюваність, показники фенотипічної стабільності і кореляції між окремими ознаками. За стандарт був взятий рекомендований для вирощування в даній зоні сорт Вінничанка.

Результати та обговорення

Із морфо-біологічних ознак поряд з іншими вивчались зимостійкість і довжина вегетаційного періоду як найбільш важливі для зони Центрально-го лісостепу.

Зимостійкість. Люцерна вважається зимостійкою культурою. Її сходи переносять заморозки до 3–5 °С та навіть нижче. Низька температура

не проявляє помітного впливу і на відростаючу люцерну посівів минулих років. Під хорошим сніговим покривом люцерна добре переносить зими з температурою до -40°C і більше [1].

Вивчення зимостійкості сортозразків люцерни різного походження проводилось при індивідуальному стоянні рослин. Дані досліджень показали, що більшість сортозразків характеризувались високою зимостійкістю на рівні 97–98%.

Разом з тим були виявлені зразки, в основному західноєвропейського походження, у яких відзначалось значне випадання рослин. Низьку зимостійкість в умовах центрального Лісостепу мали такі зразки як Mega, Ellerslaie-1, Місцева і Orca. В середньому за два роки кількість рослин, які випали, у них складала 12,0–17,0%. Слід відмітити, що найбільше їх випало на третьому році життя. Середнім рівнем зимостійкості характеризувались сортозразки із Швеції — Vertus, Globus і Gulus та сортозразок із Угорщини — AU-PX. Випадання рослин у них становило 7,0–8,0%, яке припадало на третій рік життя.

При проведенні дослідів було встановлено, що зимостійкість люцерни тісно зв'язана з особливостями її відростання весною після зимового спокою, а також із строками закінчення вегетації осінню. Краще виживання рослин було у тих зразків, які рано восени призупиняють ріст і знаходяться в затяжному зимовому спокої. Зроблена оцінка зимостійкості дозволила відібрати кращі зразки, які в нашій зоні мають найвище виживання.

Веgetаційний період. Веgetаційний період у люцерни починається ранньою весною і закінчується з настанням стійкого переходу температур через нульову відмітку. В господарському відношенні тривалість веgetаційного періоду вираховується від початку відростання до завершення достигання насіння.

В середньому за три роки довжина веgetаційного періоду по всіх сортозразках люцерни складала 107 днів. Коефіцієнт міжпопуляційної мінливості був низьким — 5,7%. При незначній міжпопуляційній мінливості даної ознаки чітко можна виділити три групи сортозразків з різною тривалістю веgetаційного періоду.

До групи ранньостиглих можуть бути віднесені сортозразки з тривалістю веgetаційного періоду 99–104 дні. Сюди входять такі сортозразки як Sverre, Йигева-118, N-152, Mega, Ellerslaie-1 і Вінничанка. До групи середньостиглих віднесені сортозразки з тривалістю веgetаційного періоду 108–113 днів: AU-PX, Vika, Orca, Globus, Жидруне, Ярославна, Vella і Verko. В групу пізньостиглих віднесений тільки сортозразок Gulus, веgetаційний період якого складав 121 день, а в окремі роки і 133 дні. Внутрішньопопуляційна мінливість довжини веgetаційного періоду також була низькою. Коефіцієнт варіації знаходився в межах 5,6–11,7

Результати дисперсійного аналізу показали, що в межах сортозразків внутрішньогрупова мінливість цієї ознаки перевищувала міжгрупову, тому

у жодного сортозразка не виявлено повторюваності ознаки по роках. Разом з тим, індивідуальний аналіз показав, що в популяціях люцерни існує певний запас мінливості.

За два роки вивчення серед зразків було виділено 208 рослин, або 16,7% від їх загальної кількості, які при мінливості довжини вегетаційного періоду стабільно по роках відрізнялися від середнього популяційного скоростиглістю. У різних сортозразків такі рослини зустрічались з неоднаковою частотою.

Високою вирівняністю за довжиною вегетаційного періоду характеризувались сортозразки Mega, Ellerslaie-1, Місцева, Vella, Gulus і Orca, в складі яких частка ранньостиглих біотипів складала від 2,1 до 7,3%. Інші сортозразки були менш вирівняні, і тому серед них скоростиглі біотиби зустрічались з частотою 12,7–27,3%. Після трьохрічного вивчення частота стабільно скоростиглих зразків зменшилась. Це особливо проявилось у сортів Ярославна і Sverre.

При порівнянні із стандартом Вінничанка, який відноситься до групи ранньостиглих сортів, найбільше ранньостиглих біотипів було виділено серед групи сортів з коротким вегетаційним періодом. У пізньостиглого сорту Gulus таких рослин не зустрічалося. Проведені дослідження показують, що тривалість вегетаційного періоду при всій його мінливості по роках є суто сортовою ознакою. І тому селекція люцерни на скоростиглість для зони центрального Лісостепу може бути перспективною. В цьому відношенні значний інтерес представляють ранньостиглі сортозразки, які мають ще достатній запас мінливості за цією ознакою.

Висота рослин в період укісної стиглості є важливим показником кормової продуктивності. В середньому за три роки міжпопуляційний показник висоти рослин складав 97,4 см при низькому показнику мінливості $V = 7,4\%$. Ця ознака в значній мірі залежить від умов вирощування. Виявлено три групи сортів, які істотно відрізняються між собою за висотою рослин в період укісної стиглості.

Низькорослі сортозразки мають висоту рослин на період першого укосу 80–85 см. Нами сюди віднесені сорти Йигева-118, Ellerslaie-1, Місцева і Ярославна.

У середньорослих сортів висота рослин сягає 90–95 см. Це найбільш багаточисельна група, в яку входять Вінничанка, Mega, Vika, Vertus, Vella, AU-PX, Gulus і Orca. До групи високорослих (висота 100 см і більше) віднесені N-152, Жидруне, Sverre, Verko, Globus і Szarvase-1. Після двохрічного вивчення із сортозразків було виділено 40,9% рослин, які стабільно перевищували середньопопуляційні показники висоти. За три роки вивчення їх число зменшилось до 24,6%.

Рослини, які перевищили стандарт Вінничанка, становили 22,8%. Можна вважати, що це група вище середньорослих рослин, оскільки стандарт характеризується як середньорослий.

Вивчення мінливості кормової продуктивності сортозразків люцерни проводилось шляхом скошування зеленої маси на початку цвітіння. Урожай зеленої маси вираховувався сумарно за два укоси (табл. 1). В лабораторних умовах у відібраних зразках визначався вміст протеїну в розрахунку на суху речовину.

За урожаєм зеленої маси достовірно перевищили стандарт сортозразки Mega, Vertus, Sverre, Vella, Verko, Globus. На рівні стандарту був сорт Місцева. Усі інші сортозразки поступилися стандарту. За збором сухої речовини жоден сортозразок не перевищив стандарт. На рівні сорту Вінничанка були сортозразки Mega, Vertus, Sverre, Vella, Verko і Globus. Значно поступилися за цим показником сортозразки Йигева-118, N-152, Жидруне, Ellerslaie-1, Gulus і Szarvase-1.

Вміст сирого протеїну по сортозразках коливався в межах 16,2–20,5 %. Найвищим він був у сортів Gulus, Vika, Йигева-118 і Вінничанка. За збором сирого протеїну з розрахунку на суху речовину достовірно перевищив стандарт лише сорт Globus. На рівні стандарту були три сортозразки — Mega, Vertus і Verko. Усі інші — достовірно були нижче стандарту.

Дані дослідження показали, що найбільший урожай зеленої маси забезпечили сортозразки з коротким і середнім вегетаційним періодом. Всі ці зразки за інтенсивністю відростання відносились до групи середньовідростаючих і характеризувались висотою травостою більше 100 см.

Таблиця 1

Оцінка кормової продуктивності сортозразків люцерни в суцільному посіві, 2011 р.

Сортозразок	Урожай зеленої маси		Суха речовина, %	Сирий протеїн, %	Збір сухої речовини		Збір сирого протеїну	
	кг/м ²	в % до St			кг/м ²	в % до St	кг/м ²	в % до St
Вінничанка	6,3	100,0	26,5	20,50	1,67	100,0	0,34	100,0
Йигева 118	3,0	48,1	23,5	20,25	0,71	42,6	0,14	42,4
N-152	3,8	61,1	24,8	18,88	0,96	57,2	0,18	53,0
Жидруне	4,6	73,5	23,4	19,76	1,08	64,9	0,21	63,0
Mega	7,0	110,6	25,7	18,19	1,79	107,1	0,33	95,7
Ellerslaie-1	5,1	81,1	22,6	19,50	1,15	69,0	0,22	66,1
Vika	4,5	71,4	26,5	20,06	1,19	71,5	0,24	70,4
Vertus	8,1	128,6	24,5	17,87	1,98	118,6	0,35	101,4
Місцева	6,8	108,1	24,1	16,00	1,64	98,4	0,26	77,3
Ярославна	4,9	78,0	26,5	19,00	1,30	78,1	0,25	72,9
Sverre	6,9	110,0	24,9	17,25	1,73	103,5	0,30	87,7
Vella	6,9	109,8	26,6	17,38	1,84	110,1	0,32	94,0
Verko	7,6	121,1	23,7	18,00	1,81	108,3	0,33	95,7
Globus	7,7	121,5	23,5	20,50	1,80	107,7	0,37	108,5
AU-PX	5,1	80,3	26,2	18,19	1,32	79,3	0,24	70,8
Gulus	4,3	67,9	25,9	18,62	1,11	66,3	0,21	60,6
Szarvase-1	2,2	35,3	25,6	16,25	0,57	34,0	0,09	27,2
Orca	5,7	90,5	25,9	18,00	1,52	91,0	0,27	80,5
HIP ₀₅	0,57				0,18		0,01	

Отже, найвищий рівень урожаю зеленої маси за два укоси забезпечують сорти з коротким і середнім вегетаційним періодом, середньою інтенсивністю відростання і які відносяться до групи високорослих.

Результати кореляційного аналізу показали, що у скоростиглих сортів досить високий тісний кореляційний зв'язок ($r = 0,79$) існує між довжиною вегетаційного періоду і тривалістю періоду відростання. Менш тісною ($r = 0,46$) була залежність вегетаційного періоду і тривалості міжфазного періоду досягання. Досить високий позитивний зв'язок встановлений між інтенсивністю відростання і висотою рослин ($r = 0,81$).

Проведені дослідження показали, що у люцерни існує чітко окреслена міжпопуляційна мінливість сортозразків за такою біологічною ознакою як тривалість вегетаційного періоду. Виявлені чіткі міжсортові відмінності за інтенсивністю відростання і висоті рослин на період укісної стиглості, що відкриває можливості добору рослин за цими ознаками.

Висновки

Ознаки кормової продуктивності характеризуються середнім (C_v до 30%), а тривалість вегетаційного періоду — низьким рівнем ($C_v < 15\%$) внутрішньопопуляційної мінливості. За ознаками кормової продуктивності виявлена чітка диференціація сортозразків, що дає можливості вивчення їх генетики.

Встановлений тісний кореляційний зв'язок інтенсивності відростання з висотою рослин ($r = 0,55-0,85$) у середньо- та пізньостиглих сортів, у ранньостиглих сортів цей зв'язок невисокий ($r = 0,17$). Добори на підвищення кормової продуктивності можна проводити лише за ознакою «висота рослини».

Тривалість вегетаційного періоду має тісний кореляційний зв'язок з тривалістю міжфазного періоду відростання ($r = 0,71-0,79$) і незначний зв'язок з тривалістю цвітіння і досягання. Добір на скоростиглість можна проводити лише за ознакою «тривалість вегетаційного періоду». Встановлено, що об'єктивна оцінка показника фенотипової стабільності рослин за більшістю ознак у люцерни може бути зроблена після трьохрічного вивчення.

При комплексному доборі за кормовою продуктивністю показники висоти відібраної групи рослин були вищими за стандарт на 17,7%. інтенсивність відростання — на 53,2%, а загальна кустистість — на 30,0%.

Література

1. Бугайов В.Д., Васильківський С.П., Власенко В.А та ін. Спеціальна селекція польових культур. — Біла Церква. — 2010. — 368 с.

Резюме

Проведено вивчення спектру мінливості, кореляцій і повторюваності господарсько — цінних ознак у 18 сортозразків люцерни різного еколого-географічного походження в умовах центрального Лісостепу України. Створено три групи селекційних матеріалів за кормовою продуктивністю.

Проведено изучение спектра изменчивости, корреляций и повторяемости хозяйственно-ценных признаков у 18 сортообразцов люцерны разного эколого-географического происхождения в условиях центральной Лесостепи Украины. Сформировано три группы селекционного материала по кормовой продуктивности.

Studies of variability spectrum, correlations and replication of economical-valuable characteristics in 18 varieties of lucerne of different ecological-geographical origin in Central Forest-Steppe natural conditions of Ukraine have been carried out. Three groups of selection materials according to seed- and feed productivity and precocity have been created.

ЯЦИШЕН О.Д., ТАРАНЕНКО Л.К., ПАЛЬЧУК М.Ф.

ННЦ «Інститут землеробства НААН»

ОСОБЛИВОСТІ УСПАДКУВАННЯ ТИПІВ ТА ЧИСЛА СУЦВІТЬ НА ПАГОНАХ ДЕТЕРМІНАНТНИХ ТА ТРАДИЦІЙНИХ ФОРМ ГРЕЧКИ (попереднє повідомлення)

Ефективним методом підвищення врожайності, регулювання тривалості вегетаційного періоду, технологічності сортів сільськогосподарських культур є використання еволюційних мутацій, обумовлюючих детермінантний тип росту пагонів, характерною особливістю яких є завершення їх розвитку. Детермінантна форма наближається по габітусу до зернових колосових культур. Детермінантність в селекції гречки обмежує морфогенез репродуктивної сфери «пагона» формуванням від 1 до 4 і більше суцвіть — ознаки, з допомогою якої в значній мірі вирішена проблема суміщення цвітіння з інтенсивним вегетативним ростом гречки, в результаті якого насіння, яке формується, змушене конкурувати за продукти фотосинтезу з вегетативними органами.

Детермінантні форми вперше були виявлені Є.А. Столетовою [1]. Незалежно її виявив і включив в селекцію Д.М. Кильдишев [2]. Пізніше детермінантні форми були виявлені в ряді популяцій [3–5]. В деяких зразках колекції ВІРа їх частота знаходиться в межах 4,7–58,5 % [4].

Детермінантність успадковується як рецесивна гомозигота за локусом *d* [5]. Рецесивна алель *d* блокує діяльність апікальних меристем у пагонів всіх порядків і в результаті утворюються суцвіття з різними числовими коливаннями, на даний період виявлені детермінантні форми з числом суцвіть від одного до 4 і більше; різної форми проявлення — однокитицева, двухкитицева — дві китиці з одного вузла пагона та звичайне завершене суцвіття до 4 китиць. Ця особливість може свідчити про існування генетичної системи, регулюючої прояв рецесивної гомозиготи по локусу *d*.

Найбільш характерними особливостями детермінантної форми, які відрізняють її від відомих в даний час морфобіотипів, служить чіткий генетичний контроль типу та кількості суцвіть на пагонах, що визначає страте-

гію успішної селекції на підвищення продуктивності, стійкості до вилягання, дружності дозрівання та короткостебловості.

Матеріал та методи

За діалельною та парною схемами були проведені схрещування між лініями з різним типом та числом суцвіть (1, 2 та 4 та більше).

Фенотипи індивідуальних рослин, які були включені в схрещування, слідуючі:

- 1 — форма з довгим одноколосковим суцвіттям (однокитицева);
- 2 — форма з 2 китицями, які виходили з однієї пазухи пагона;
- 3 — форма «пучок», яка включала декілька суцвіть (4 і більше);

Схрещування та розмноження гібридів проводили в ізоляції (в теплиці та під марлевими ізоляторами), морфологічний аналіз батьківських форм та гібридів — в польових умовах. В якості контролю використовувались лінії, із яких були відібрані рослини для схрещувань. Характер успадкування та прояв форм суцвіття різних детермінантних форм за названими ознаками визначали за морфологічним аналізом гібридів F_1 та батьківських форм в польових умовах.

Для оцінки числа генів використовували метод, який базується на розкладанні популяцій на компонентні фенотипи F_2 .

Доля популяції F_2 , відповідна батьківській формі P_1 (батьківська форма з більшим значенням ознаки) визначалась як доля рослин цього типу, в якому середнє значення ознаки прирівнювалося середньому значенню P_1 .

Щоб мінімізувати вплив модифікаційної мінливості, для кожної рослини визначали середнє значення кількості суцвіть на головному пагоні та гілках. Ці середні значення і використані для генетичного аналізу.

Через індексні показники співвідношень основних морфобіологічних та господарсько-цінних показників детермінантних та індетермінантних форм, які найбільше визначають урожайні та технологічні властивості, визначали особливості та перспективу детермінантних форм в порівнянні з цими ж показниками традиційних форм гречки.

Результати та обговорення

Детермінантність визиває значні зміни в розвитку окремих органів, ритму онтогенетичних процесів і співвідношень генеративної та вегетативної маси, тобто характеризується зміною архітекtonіки морфотипу порівняно з традиційними формами. Середні значення ознаки, типу та кількість суцвіть між батьківськими формами за параметрами.

При схрещуванні однокитицевого детермінанту з двохкитицевим в гібридів F_1 прямих та реципроктних схрещувань проявилось неповне домінування однокитицевості (108 однокитицевих та 10 двохкитицевих — в прямих F_1 та 8 — у зворотніх схрещуваннях); у повторній комбінації із 179 гібридів F_1 встановлено 156 гібридів однокитицевих та 23 гібриди двохкитицеві, що підтверджує неповне домінування ознаки однокитицевості.

У гібридів F_1 від схрещування однокитицевої форми з 4-китицевою детермінантною формою проявилась комплементарна взаємодія генів, яка забезпечила в прямих схрещуваннях: із 220 гібридів — 212 двохкитицевих, 18 однокитицевих (можливий варіант самозапилення); у зворотніх із 30 отриманих гібридів — 30 двохкитицевих.

В комбінаціях (♂ детермінант 4-китицевий х ♀ детермінант двохкитицевий) із 48 прямих гібридів F_1 — отримано 48 двохкитицевих гібридів, у гібридів зворотніх схрещувань із 123 гібридів — 123 гібриди виявились двохкитицевими, що свідчить про повне домінування двохкитицевої форми над 4 китицевою.

Із попереднього повідомлення витікає, що за середніми значеннями кількості суцвіть для комбінацій, де в якості батьківських форм використовувалися: ♂ детермінант однокитицевий (31,9 суцвіть) х ♀ детермінант двохкитицевий (42,9 суцвіть) за ступенем фенотипічного характеру успадкування при прямому схрещуванні спостерігалось позитивне наддомінування (ПНД) (55,5 суцвіть), а в зворотньому — проміжковий прояв (ПП) (33,8 суцвіть). Тенденція підтвердилась і в повторному схрещуванні: в комбінації ♂ детермінант двохкитицевий (44,2 суцвіть) х ♀ детермінант однокитицевий (28,2 суцвіть) проявилось позитивне наддомінування (51,3 суцвіть).

Виходячи із приведених даних, ознаки число суцвіть на пагонах контролюються як ядерними, так і цитоплазматичними факторами.

При схрещуваннях в якості материнської лінії яких використовували (♂ однокитицевий детермінант (32,0) х ♀ детермінант форма «пучок» (43,1)) успадкування кількості суцвіть було проміжковим (37,0); при схрещуванні (♂ форма «пучок» (47,6) х ♀ детермінант однокитицевий (34,0)) в прямих (36,1) і зворотніх схрещуваннях (43,9) характер успадкування кількості суцвіть проявився також як проміжковий хоча з слабкою епістатичною дією.

Для комбінацій, де (♂ детермінант двохкитицевий (31,7) х ♀ детермінант форма «пучок» (43,3)) успадкування за кількістю суцвіть спостерігалось як позитивне наддомінування (45,9); в комбінації, де материнська лінія (♂ форма «пучок» (47,8) х ♀ детермінант двохкитицевий (40,0)) за кількістю суцвіть в гібридів від прямого схрещування виявилось від'ємне наддомінування (ННД) (31,6), а в зворотньому — епістатична дія оцінювалась як дуже слабка (39,2).

Кількісним аналізом встановлено, що тип успадкування в комбінації обумовлений генетичними взаємодіями: від'ємне наддомінування компенсується протилежним ефектом міжлокусних взаємодій.

При порівняльному аналізі за господарсько-цінними та морфобіологічними особливостями структури продуктивності детермінантних та традиційних індетермінантних форм в зоні проведення дослідів (Лісостеп України), яка характеризується помірно теплим кліматом і коротким періодом

оптимального зволоження, слід відмітити переваги за приведеними ознаками виявлених нами детермінантних форм над традиційною.

Цінність представляє детермінант двохкитицевий він має найвищі значення за прямими показниками (маса зерна — 12,9; кількість — 454) а також за індексними показниками озерненість III — 0,313; індекс індивідуальної насінневої продуктивності (ІНП) — 0,246; індексом атракції (ІА) — 0,683; він переважає всі детермінантні та індетермінантні форми, що свідчить про селекційну цінність як форми яка може успішно використовуватись в селекції на продуктивність.

Основними господарсько-цінними ознаками служать маса та кількість зерна, кількість та озерненість суцвіть, крупність зерна, енергія плодоутворення, раціональне співвідношення генеративної та вегетативної маси, вихід зерна з загальної біомаси рослин, короткостебловість, стійкість до вилягання.

Проводячи індексне співвідношення прямих та індексних показників продуктивності та габітусу детермінантних форм та індетермінантних форм проявилась слідуюча закономірність за довжиною головного пагона співвідношення на протязі двох років (2010, 2011) їх індексні показники коливались в межах від 0,79 до 0,81 тобто за висотою всі детермінантні форми (від 71,5 до 79,3 см) поступаються традиційній формі (від 87,9 до 98,2 см). Основними показниками структури продуктивності, масою і кількістю зерна найвищий показник мав детермінант двохкитицевий у 2010 році (1,63 і 1,54), а в 2011 році (1,26 і 1,23). Це пояснюється тим, що 2010 рік в порівнянні з 2011 році був більш жарким і несприятливим за метеорологічними умовами, а тому в негативних умовах росту рослин і зав'язування плодів детермінант з двома китицями має вищу адаптивність і стресостійкість.

Аналізуючи співвідношення детермінантних форм до традиційної за індексними показниками структури продуктивності відмічаємо тенденцію переваги детермінантних форм. Однозначну перевагу за двома роками мав детермінант з двома китицями озерненість III — 2,65 і 1,33; індексом індивідуальної насінневої продуктивності (ІНП) — 1,45–1,29; індекс атракції (ІА) — 1,47 і 1,50.

Слід відмітити, що відселектовані генотипи за формою та кількістю суцвіть із виявлених детермінантних форм у гібридів F_1 проявили різний характер успадкування, забезпечили переваги за індексами співвідношень елементів структури продуктивності над традиційними індетермінантними формами.

Висновки

Виявлені детермінантні форми за формою і кількістю суцвіть: однокитицеві, двохкитицеві, багатокитицеві, гібриди F_1 за типами суцвіть яких проявляють різний характер успадкування від негативного до позитивного наддомінування.

За характером успадкування кількості суцвіть, за якими відрізняються детермінантні форми різних типів суцвіть гібридів F_1 проявляється: неповне домінування однокитицевості над двокитицевим детермінантом. Повне домінування двохкитицевості над багатокитицевим і комплементарна взаємодія генів у гібридів F_1 при схрещуванні однокитицевого детермінанта з детермінантом 4 і більше китиць.

За індексними та прямими ознаками продуктивності детермінантні форми різних типів суцвіть забезпечили переваги над традиційними (індетермінантними) формами, особливо слід відмітити переваги двохкитицевого детермінанта.

Література

1. Столетова Е. А. Гречиха. Изд. I-е. — Л.: Сельгиз, 1940. — 110 с.
2. Кильдишев Д. М. Особенности цветения и плодоношения гречихи в связи с ее селекцией: автореф. дис. канд. с.-х. наук: спец. 06.01.05 «селекция и семеноводство» / Д. М. Кильдишев. — Воронеж, 1951. — 24 с.
3. Кротов А. С. Гречиха / А. С. Кротов. — Сельхозиздат. — М., 1963. — 253 с.
4. Нетевич Э. Д. Изменчивость внутри гибридных популяций и использования ее в селекции гречихи. Биология и возделывания гречихи. — М., 1962. — С. 94–104.
5. Фесенко Н. В. Генетический фактор, обуславливающий детерминантный тип растения у гречихи / Н. В. Фесенко // Генетика, 1968. — Т. 4. — № 4. — С. 165–166.

Резюме

Виявлена генетична обумовленість різниці між детермінантними формами по формі та числу суцвіть на пагонах. Існує кількісна мінливість числа генеративних вузлів на пагонах детермінантних форм; виявлені детермінантні форми з кількістю суцвіть від одного до чотирьох, що свідчить про існування генетичної системи, яка регулює прояв рецесивної гомозиготи по локусу d.

Виявлена генетическая обусловленность разницы между детерминантными формами по форме и числу соцветий на побегах. Существует количественная изменчивость числа генеративных узлов на побегах детерминантных форм; выявлены детерминантные формы с количеством соцветий от одного до четырех, что свидетельствует о существовании генетической системы, которая регулирует проявление рецессивной гомозиготы d.

Educed genetic conditionality of difference between determination forms on a form and number of inflorescences on escapes. There is quantitative changeability of generic knots on escapes of determinant forms are reduced with the amount of inflorescences from one to four, that testifies to existence of the genetic system that regulates the display of recession homozygote for locus d.

БАРАНОВСКИЙ Д. И.

Харьковская государственная зооветеринарная академия

*62341, Украина, Харьковская область, Дергачёвский район, п/о Малая Даниловка,
ул. Академическая 1.*

e-mail: zoovet@zoovet.kharkov.ua

ФОРМИРОВАНИЕ АДАПТИВНЫХ ПРИЗНАКОВ ПРИ ГИБРИДИЗАЦИИ В СВИНОВОДСТВЕ

В онтогенезе, как и в филогенезе, способность организма к специфическому ответу непосредственно связана с развитием лимфоидной системы и её основных клеточных элементов. При этом в работах ряда исследователей показано, что у млекопитающих иммунная реактивность начинает развиваться ещё в эмбриональный период и окончательно оформляться лишь на определенном этапе физиологического созревания организма [2–3].

Особый интерес представляет динамика и изменчивость показателей иммунитета свиней при создании породно-линейных гибридов, характеризующихся высоким уровнем мясной продуктивности и эффектом гетерозиса.

Гибридикация — современный этап селекции, основанный на достижениях генетики количественных признаков и популяционной генетики животных [1–3].

Материалы и методы

Наши исследования были направлены на изучение изменений некоторых показателей продуктивности, естественной резистентности и иммунобиологической реактивности организма чистопородных и гибридных свиней.

Исходным материалом для опытов послужили свиноматки и хряки крупной белой породы и хряки ведущих специализированных мясных пород: эстонская беконная — линия Эрка; ландрас — линия Элеганта; уельс — линия — Уэйтера и порода пьетрен — линия Обскура. Таким образом, перед нами была одна из основных задач — создание генотипа. В создании генотипа участвует линия.

Результаты и обсуждения

Продуктивность чистопородных и гибридных маток оценивали по многоплодию, крупноплодности, молочности, массе приплода в 2-месячном возрасте и сохранности поросят к отъему, а также по откормочным и убойным качествам приплода.

Анализ результатов первой серии опытов показал, что в сравнительно одинаковых условиях кормления и содержания продуктивность подопытных свиноматок была разной. Высокие показатели многоплодия прародительской линии маток Секрета — 12,1 гол. указывают на то, что свиноматки этой линии получены как результат многолетней углубленной внутрилинейной селекции. Свиноматки опытных групп незначительно уступали им по многоплодию, но превосходили последних по крупноплодности, массе приплода в 21 — и 60-дневном возрасте.

При исследовании у поросят динамики клеточного и гуморального иммунитета было установлено, что в первую половину молочного периода показатели иммунобиологической реактивности у них снижаются. Следовательно, в этот период онтогенеза эти животные являются наименее устойчивыми к воздействию факторов внешней среды, в том числе к инфекционным агентам. Фагоцитарная активность лейкоцитов новорожденных поросят значительно ниже, чем у взрослых животных, а в первые две недели молочного периода характеризуются снижением фагоцитарной активности лейкоцитов, особенно у мелкоплодных поросят. Недостаточность фагоцитарного механизма защиты в этот период онтогенеза усугубляется снижением количества фагоцитов (макрофагов) в единице объема крови. В последующем онтогенезе фагоцитарная активность лейкоцитов закономерно повышается, а к 6-месячному возрасту достигает уровня взрослых животных. Следовательно, лейкоциты крови активно участвуют в поглощении, попадающих в организм животного микробов.

Комплект впервые появляется в крови поросят на пятый день после их рождения. Его содержание в крови в ходе последующего онтогенеза закономерно повышается, но к 6-месячному возрасту животных не достигает уровня взрослых особей.

Содержание гетерогемоагглютининов в крови поросят в первую половину молочного периода онтогенеза находится также на низком уровне, а во второй половине — титр гетерогемоагглютининов увеличивается в 10 раз и более, свидетельствуя о достижении физиологической зрелости механизмов иммуногенеза.

Белки крови постепенно обмениваются с белками тканей, участвуют в процессах синтеза гормонов и витаминов, регуляции кислотно-щелочного равновесия, водного обмена, выполняют защитные и другие функции в организме.

Особенностью возрастной динамики лимфоцитов в крови поросят является относительно низкое содержание их при рождении с последующим повышением до конца молочного периода. С возрастом животных содержание лимфоцитов в крови свиней остается без существенных изменений.

Для определения общей иммунобиологической реактивности организма свиней нами использовалась внутрикожная проба с трипановой сенью Лецинского — Кавецкого, которая отражает состояние кожи как важ-

ного защитного органа, показывает изменение ретикуло-эндотелиальных элементов кожи. Коэффициент кожной пробы при рождении был у поросят крупной белой породы — 2,24; крупная белая × ландрас — 4,68; крупная белая × эстонская беконная — 3,07; крупная белая × уэльс — 5,49; крупная белая пьетрен — 2,20.

В пятидневном возрасте соответственно — 2,86; 3,98; 3,15; 5,65 и 2,46. В дальнейшем у гибридных животных эти закономерности подтверждаются. Нами обнаружено, что у гибридных поросят с более высокими показателями коэффициента кожной пробы соответственно наблюдалось лучшее общее состояние организма, а также более высокие среднесуточные приросты, улучшение морфологических показателей крови и увеличения бета — и гамма — глобулинов.

Трехпородные гибриды по ряду показателей превосходили не только чистопородных подсвинков крупной белой породы, но и двухпородных гибридов. Особый интерес по откормочным и мясным качествам представляли межлинейные сочетания, в которых последней породой была пьетрен — линия Обскура, они от 8 до 17 дней превосходили по скороспелости подсвинков других межпородных сочетаний.

Выводы

Выявлены наилучшие линейно-породные сочетания крупная белая × уэльс × пьетрен и крупная белая × ландрас × пьетрен, которые могут быть рекомендованы для промышленных комплексов в качестве пользовательного гибрида, а сочетания крупная белая × уэльс × ландрас и крупная белая × уэльс × эстонская беконная — в качестве основы для создания материнских линий.

Повышенная продуктивность гибридных животных, проявление эффекта гетерозиса обусловлены их интерьерными особенностями. Наибольшая концентрация гамма — глобулинов в первые сутки после рождения характерна для гибридных животных, что указывает на формирование у них активного механизма защиты от инфекции. Так, в трехпородном сочетании крупная белая × эстонская беконная × пьетрен концентрация гамма — глобулина в сыворотке крови составила 3,22 г (50,2 %), близким с ним было сочетание крупная белая × уэльс × пьетрен — 3,10 г (45,59 %), различия достоверны ($P > 0,001$).

Литература

1. *Буркат В. П., Сметанин В. Т.* Генетические аспекты селекции. — К., 1992. — С. 3–12.
2. *Карпуть И. М.* Имунная реактивность свиней. — Минск: Урожай, 1981. — 143 с.
3. *Смирнов В. С., Горин В. В., Шейко И. П.* Биотехнология свиноводства. — Минск: Урожай, 1993. — С. 19–35.
4. *Хохлов А. М., Барановский Д. И.* Мониторинг факторов естественной реактивности организма свиней при гибридизации // Труды Кубанского государственного аграрного университета. — 2009. — С. 348–349.

Резюме

Гибридизация — современный этап селекции, основанный на использовании генетических особенностей пород и линий.

Гибридизація — це сучасний етап селекції, заснований на використанні генетичних можливостей порід та ліній.

Hybridization is the current stage of selection based on the use of genetic possibilities of breeds and lines.

**БУРОВ В. О., СТЕПНЕВСЬКА Я. В., БУРОВ В. В., КОЛЬЦОВА О. Г.,
СМЕТАНІН В. Т.**

ДВНЗ «Український державний хіміко-технологічний університет»,

Украина, 49005, м. Дніпропетровськ, пр. Гагаріна, 8, e-mail: 467436@rambler.ru

ВПЛИВ РІЗНИХ ГОРМОНІВ НА БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ СПЕРМИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Серед факторів, які впливають на ефективність штучного запліднення, життєздатність та активність спермій, можливість їх зберігати ці якості при різнохарактерному впливі середовища протягом тривалого часу є однією з визначальних [1–2]. Відомо також, що штучні середовища, які використовуються для зберігання та розведення сперми, повинні бути наближені за своїм складом до природних та забезпечувати сперміям бактеріальну безпеку та поживні речовини, а також гормональну активність необхідну як для завершення функціональних та морфологічних перетворень чоловічих та жіночих статевих клітин, так і реалізації складних та тонких механізмів міжклітинних взаємодій, які відбуваються при самому заплідненні [3–4].

Тому актуальним є вивчення впливу жіночих та чоловічих гормонів на активність та життєздатність спермій в штучних умовах збереження.

Матеріали та методи

Дослідження впливу жіночого статевого гормону етініл-естрадіолу та гормону жовтого тіла — етініл-тестостерону, а також чоловічого статевого гормону -метилтестостерону на життєздатність та активність спермій проводили шляхом додавання їх до стандартного середовища — глюкозо-цитрат-жовточний розріджувач та порівняння цих показників через 2, 4, 6 та 8 діб зберігання в стандартних умовах. В якості контролю були використані результати отримані без додавання гормонів. Сперму одержували від клінічно здорових бугаїв-плідників симентальської породи на штучну вагіну від 7 до 8 годин ранку. Неповноцінні еякуляти відбраковувалися. Свіжоотриману сперму оцінювали загальноприйнятими методами. Після її якісної оцінки вона розбавлялася глюкозо-цитрат-жовточним розріджувачем з розрахунку, щоб у 1 см³ розведеної сперми було 30–50 млн спермій. Розведену сперму розливали у флакони ємкістю 10 см³. Флакони зі спермою поміщали в холодильник і зберігали при температурі 0 + 4 °С. Через

кожні 24 години в пробах визначали активність сперміїв при температурі +38 +40 °С і розраховували показник живучості. В усіх випадках застосовувався тільки метод розщеплених еякулятів при 3–5-кратному повторенні кожного дослідження.

При визначенні впливу гормональних препаратів на життєздатність сперміїв отриманих від бугаїв-плідників різного віку сперму отримували від трьох тварин — 3, 5 та 8 років, які знаходилися в однакових умовах годівлі, утримання і використання, від них одержували через кожні 2 дні на третій по 2 еякуляти поспіль і оцінювали загальноприйнятими методами. Придатну для використання сперму розбавляли глюкозо-цитрат-жовточним розріджувачем з таким розрахунком, щоб у 1 см³ було 30–40 млн активних сперміїв. Розведену сперму розділяли на дві рівні частини. До однієї з них на кожні 100 см³ розріджувача додавали різну кількість гормону етініл-естрадіолу і 0,04 г лимонної кислоти, а друга частина була контролем. У господарства відправлялась рівна кількість сперми з гормональним препаратом і без нього, де в лабораторіях пунктів штучного запліднення після розморожування, безпосередньо перед заплідненням корів, в розбавленій спермі визначали життєздатність сперміїв.

Результати та обговорення

Додавання до стандартного глюкозо-цитрат-жовточного розріджувача сперми різних доз гормону етініл-естрадіолу (від 0,004 до 0,03 мг) показало в більшості випадків достовірне збільшення активності та життєздатність сперміїв, отриманих від бугаїв-плідників, при зберіганні, в усі періоди, що вивчалися (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив етініл-естрадіолу на активність та живучість сперміїв (досліджено 5 еякулятів)

Час зберігання сперми, доба	Доза етініл-естрадіолу в глюкозо-цитрат-жовточному розріджувачі, мг/100 мл									
	Контроль		0,03		0,015		0,0075		0,004	
	Активність та живучість спермійв, бал									
	M±m	P	M±m	P	M±m	P	M±m	P	M±m	P
0	8,5±0,4	Контроль	8,5±0,4	-	8,5±0,4	-	8,5±0,4	-	8,5±0,4	-
2	8,2±0,3		8,9±0,2	<0,95	8,9±0,2	<0,95	9,1±0,1	>0,95	8,7±0,1	<0,95
4	7,5±0,3		8,4±0,3	<0,95	8,6±0,2	>0,95	8,7±0,3	>0,95	8,5±0,2	<0,95
6	6,7±0,4		8,2±0,3	>0,95	8,6±0,2	>0,99	9,0±0,2	>0,99	8,3±0,3	>0,95
8	6,7±0,2		7,3±0,1	>0,95	7,7±0,2	>0,95	8,4±0,2	>0,99	8,2±0,3	>0,99
Живучість спермійв, бал	0,245		0,06		0,01		0,06		0,015	

Найкращі показники активності сперміїв, які перевищували на 0,1–0,9 балів в різні періоди групи з іншою концентрацією етініл-естрадіолу, та на 0,9–2,3 бали — контрольну групу, спостерігалися при додаванні 0,0075 мг досліджуваного гормону. Також встановлена і достатньо висо-

ка живучість спермій, що дозволяє зробити висновок, що така доза є оптимальною.

Вплив метилтестостерону та етініл-тестостерону на ознаки, що вивчалися наведені в таблиці 2, з якої можна зробити висновок, що найбільш ефективно впливають на збільшення активності та живучості спермій при зберіганні, дози цих гормонів в кількості 0,8 мг. Найбільший вплив виявляється на 6 сутки, коли активність на 54 та 46% відповідно перевищує показники контрольної групи. Різниця високо достовірна ($P=0,999$).

Вікові зміни організму реалізуються і на якості сперми, тому у бугаїв-плідників різного віку були вивчені її кількісні показники за основними ознаками, які характеризують її технологічну природність для штучного запліднення, а також вплив етініл-естрадіолу на живучість спермій (табл. 3).

Таблиця 2

Вплив метилтестостерону та етініл-тестостерону на активність та живучість спермій (досліджено 5 еякуляторів)

Час зберігання сперми, доба	Доза метилтестостерону та етініл-тестостерону в глюкозо-цитрат-жовточному розріджувачі, мг/100 мл									
	Контроль		метилтестостерон				етініл-тестостерон			
			0,8		3,0		0,8		3,0	
	Активність та живучість спермій, бал									
	M±m	P	M±m	P	M±m	P	M±m	P	M±m	P
0	8,3±0,3	Контроль	8,3±0,3	-	8,3±0,3	-	8,3±0,3	-	8,3±0,3	-
2	5,9±0,2		7,1±0,2	>0,99	6,9±0,4	<0,95	6,7±0,4	<0,95	6,2±0,3	<0,95
4	5,9±0,2		6,7±0,1	>0,95	6,7±0,2	>0,95	6,5±0,3	<0,95	4,7±0,3	<0,95
6	3,1±0,1		6,7±0,1	>0,999	5,0±0,3	>0,99	5,7±0,1	>0,999	3,6±0,1	>0,95
8	3,1±0,2		6,4±0,2	>0,999	3,9±0,3	<0,95	5,6±0,1	>0,999	3,6±0,1	>0,95
Живучість спермій, бал	0,76		0,315		0,535		0,435		0,755	

Таблиця 3

Показники нативної сперми та живучість спермій після зберігання в рідкому азоті

Вік бугаїв, років	Свіжоотримана нативна сперма						Живучість спермій після розбавлення, зберігання при глибокому заморожуванні в рідкому азоті та розморожуванні перед заплідненням	
	п, еякуляторів	Об'єм, мл	Концентрація, млрд/мл	Активність, бал	Резистентність, тис.	Патологічні форми, %	стандартний розріджувач	стандартний розріджувач +0,0125 мг етініл-естрадіолу +0,04 мг лим. кислоти
8	12	6,2	0,98	9,1	47	8	0,18	0,04
5	12	6,2	0,90	9,0	52	9	0,33	0,20
3	12	6,2	1,00	9,0	47	9	0,14	0,14

Проведеними дослідженнями встановлено, що живучість спермійв знижується на 58 та 23 % зі збільшенням віку до 5 та 8 років бугаїв-плідників від яких вона отримана відповідно. Додавання до стандартного глюкозо-цитрат-жовточного розріджувача сперми етініл-естрадіолу в концентрації 0,0125 мг/100 мл та 0,04 мг лимонної кислоти значно збільшують живучість спермійв у дорослих тварин та практично не впливають на цей показник у молодих трьохрічних плідників.

Висновки

Проведені дослідження показали позитивний вплив додавання до стандартного розріджувача сперми жіночих і чоловічих гормонів на активність та життєздатність спермійв крупного рогатого скота в штучних умовах збереження:

— найбільш високу активність спермійв відмічено при додаванні 0,0075 мг етініл-естрадіолу на 100 мл стандартного розріджувача, до того ж зберігається також їх висока життєздатність;

— використання в розріджувачі метилтестостерону та етініл-тестостерону в кількостях 0,8 мг/100 мл дозволяє практично на 5-% збільшити рівень досліджуваних ознак при зберіганні спермійв до 6 діб без глибокого заморожування;

— встановлено зниження живучості спермійв зі збільшенням віку бугаїв-плідників, яке можна затримати при додаванні до розріджувачу етініл-естрадіолу в концентрації 0,0125 мг/100 мл та 0,04 мг лимонної кислоти.

Література

1. *Небогатиков Г. В.* Практикум по акушерству, гинекологии и искусственному осеменению животных / Г. В. Небогатиков. — М.: Мир, 2005. — 272 с.
2. *Студенцов А. П.* Ветеринарное акушерство, гинекология и биотехника размножения / А. П. Студенцов и др. — М.: Агропромиздат, 1999.
3. *Ильинский Е. В.* Руководство по акушерству, гинекологии и биотехнике размножения животных / Е. В. Ильинский, М. В. Назаров, А. Н. Трошин, В. Н. Шевкоплас. — Краснодар: КГАУ, 2002. — 604 с.
4. *Ескін Г. В., Наріжний А. Г., Крейндіна Н. И., Джамалдінов А. Ч.* Применение адаптогенов для повышения качества заморожено-оттаянной спермы // Науковий вісник НУБіП України. — 2011. — Випуск 160 (2). — С. 180–186.

Резюме

Підібрано оптимальні штучні середовища для зберігання та розведення сперми, які наближені за своїм складом до природних та забезпечують її тривале зберігання. Досліджено вплив природи гормонів та розріджувача на життєздатність та активність спермійв. Показано, що використання мікродоз метилтестостерону, етініл-тестостерону та етініл-естрадіолу позитивно впливають на активність та живучість спермійв але найбільш ефективним є останній.

Подобраны оптимальные искусственные среды для хранения и разведения спермы, которые приближены по своему составу к природным и обеспечивают ее длительное хранение. Исследовано влияние природы гормонов и разбавителя на жизнеспособность и активность спермиев. Показано, что использование микродоз метилтестостерона, этинил-тестостерона и этинил-эстрадиола положитель-

но влияют на активность и живучесть спермиев, но наиболее эффективным является этинил-эстрадиол.

The optimal artificial solutions for storage and dilution of sperm, which are close in composition to natural and ensure its long-term storage were found. The influence of hormones and the nature of diluents on the viability and activity of spermatozoa were studied. It is shown that the addition of micro-doses of methyl testosterone, testosterone and ethinyl estradiol give a positive effect on the activity and vitality of the spermatozoa but the most effective is ethinyl estradiol.

ВАСИЛЬЕВ В. С., ХОХЛОВ А. М., ВАСИЛЬЕВА О. В.

*Харьковская государственная зооветеринарная академия, Украина, 62341,
Харьковская обл., Дергачевский район, п/о Малая Даниловка, ул. Академическая 1,
e-mail: zoovet@zoovet. Kharkov*

КОЛИЧЕСТВО ДНК В СПЕРМИЯХ БЫКОВ И ОПЛОДОТВОРЯЕМОСТЬ КОРОВ

Интерференционный биологический микроскоп позволяет наблюдать живые, не окрашенные клетки с хорошим контрастом и проводить количественные измерения концентрации вещества, определять различные дефекты строения клеток, сухую массу, количество ДНК, белка в них [1]. В последнее время, в результате исследования генома человека рядом авторов было показано, что до 90 % информации заключенной в ДНК не используется, то есть такая ДНК является хламом или junk-DNA [4]. В этой связи была поставлена задача оценить количество «мусорной» ДНК в спермиях быков методами интерференционной микроскопии.

Материалы и методы

Исследовали нативную и технологически обработанную (криоконсервация, лазерное облучение) сперму быков, хряков, баранов, других животных и птиц и, в сравнительном аспекте, сперму человека. Определяли традиционными методами объем, активность, концентрацию, цвет, биохимические и другие показатели, для спермы человека определяли число активно-подвижных, подвижных, местно-качающихся и неподвижных спермиев в каждом эякуляте [2,3].

С помощью интерференционной микроскопии определяли частоту различных дефектов в строении спермиев, измеряли размеры, сухую массу головок спермиев, количество ДНК и белков в них [1]. Учитывались возраст, порода животных, влияние генотипических и фенотипических факторов на качество спермы. Воспроизводительные способности племенных быков оценивали по результатам оплодотворения коров после первого осеменения. Опыты проводились с 1972 года по настоящее время в ХГЗВА, НИИ животноводства УААН, ХНТУСХ, Харьковской госплемстанции и др. предприятиях. Результаты измерений обрабатывали общепринятыми статистическими методами [5].

Результаты и обсуждение

Значение изучения количественных показателей клеток спермы животных и человека методами интерференционной микроскопии для определения плодовитости и состояния репродуктивной системы животных было показано в предыдущих работах [1,2,3]. Анализ взаимосвязи воспроизводительной способности животных с количественными показателями спермы, сухой массой головок спермиев, количеством ДНК и белков в них был проведен для 98 племенных быков. На рис. 1 представлены результаты осеменения коров спермой быков с разным уровнем ДНК в головках спермиев. Из представленных данных следует, что наибольшей плодовитостью обладали быки, в спермиях которых содержалось от 2,7 до 2,9 пг ДНК. С уменьшением уровня ДНК в спермиях от 2,70 до 1,85 пг оплодотворяемость коров, такой спермой, существенно уменьшалась с 47% до 27% в среднем. А спермой быка Консул-5354, имеющего количество ДНК в спермиях равное 1,85 пг, оплодотворено коров с первого осеменения только в 14,7% случаев. Снижение среднего уровня оплодотворяемости вполне достоверно, поскольку $t=2,36$ и $P<0,05$.

Корреляционный анализ также показал, что при низких уровнях ДНК в спермиях (1,85–2,70 пг), оплодотворяющая способность быков растет с ростом количества ДНК ($r=0,563\pm 0,157$). С дальнейшим ростом количества ДНК в головках спермиев, выше среднего уровня (2,94 пг), наблюдалось медленное снижение оплодотворяющей способности. Оплодотворяемость

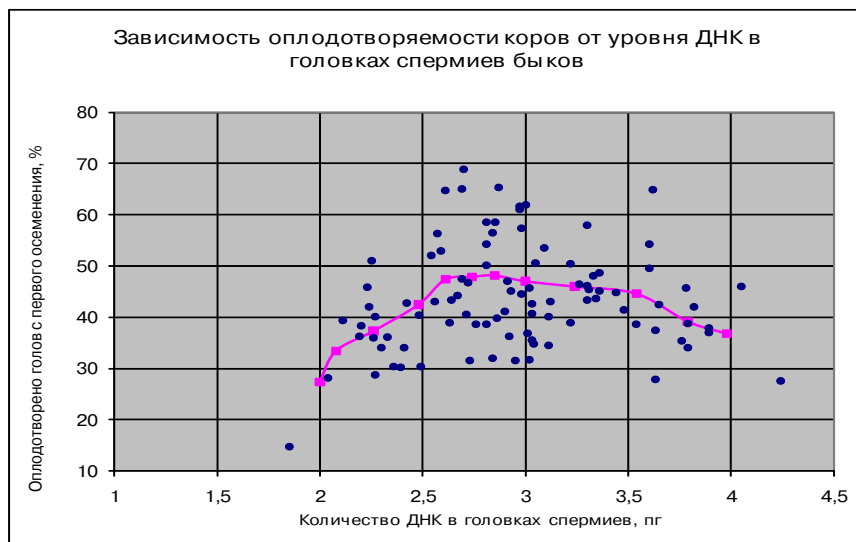


Рис. 1. Зависимость оплодотворяемости коров от количества ДНК в головках спермиев быков

коров достоверно снижалась с 47% до 37%, в среднем, с ростом содержания ДНК в спермиях от 3,30 до 4,24 пг.

Характер зависимости оплодотворяемости коров от количества ДНК в головках спермиев быков подобен нормальному распределению, с явно выраженной асимметрией в сторону больших значений ДНК. Если при снижении уровня ДНК в спермиях относительно среднего на 32 % оплодотворяемость коров снижалась в 1,74 раза, то при содержании ДНК выше среднего на 41 % оплодотворяемость коров уменьшилась всего лишь в 1,27 раза.

Анализируя полученные результаты с точки зрения гипотезы о «лишней» или junk-ДНК можно оценить верхний предел «ненужной» ДНК в спермиях быков. Очевидно, что этот предел будет равен разности между наибольшим и наименьшим количеством ДНК в спермиях племенных быков. В нашем случае наименьшее количество ДНК в спермиях, обеспечивающее нормальную воспроизводительную способность быка, было равно 1,85 пг, а наибольшее — 4,24 пг. Таким образом, junk-ДНК в спермиях быков может быть около 2,39 пг или составлять 56,4 % от общего содержания ДНК.

Могут ли некоторые наследственные признаки, например плодовитость животных, определяться нуклеотидными последовательностями в «лишней» ДНК? На рис. 2 показано содержание ДНК в спермиях быков — сводных братьев линий Анас Адема (черно-пестрый скот) и Радониса (симментальский скот). Обращает на себя внимание тот факт, что срав-

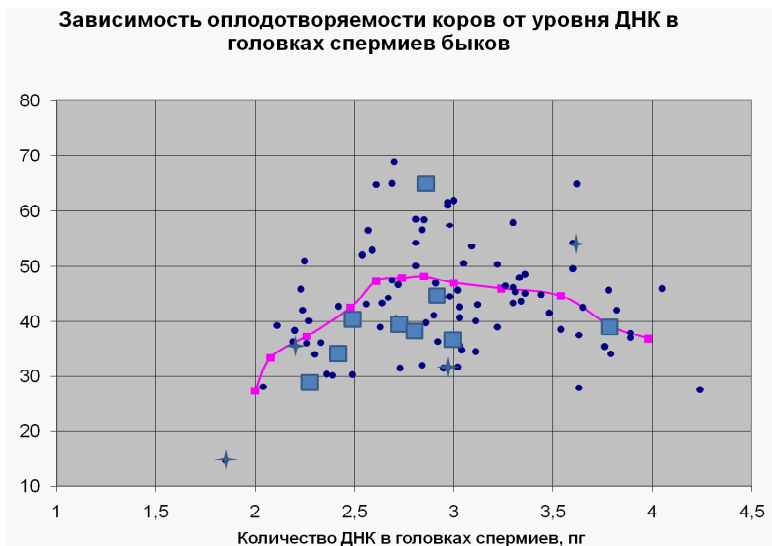


Рис. 2. Зависимость оплодотворяемости коров от уровня ДНК в головках спермиев быков линий Анас Адема (□) и Радониса (+)

нительно близкие родственники имеют широкие вариации как количества ДНК в головках спермиев, так и оплодотворяющей способности спермы.

Таким образом, половое размножение, сопровождающееся рекомбинацией нуклеотидных последовательностей ДНК в хромосомах, приводит к разбросу индивидуальных показателей наследственного материала в широком диапазоне.

Быки, имеющие большую массу тела, имели, как правило, и большее количество ДНК в спермиях, поэтому живая масса животных, возможно, определяется некоторыми нуклеотидными последовательностями в «теневой» ДНК.

Сухая масса головок спермиев пропорциональна количеству ДНК и, по нашим данным, коэффициент корреляции для этих показателей равен 0,690. Для определения плодовитости животных, в некоторых случаях, достаточно, по-видимому, измерение количества сухого вещества в головках спермиев. Сухая масса головок спермиев, измеренная методом интерференционного однородного поля с большим раздвоением [1], для 129 исследованных быков в среднем равнялась 8,67 пг с рассеянием (дисперсией) от 7,61 до 9,93 пг; для 26 хряков — 8,78 пг (7,1–9,3 пг); для 12 баранов — 8,39 пг (7,4–8,9 пг); для 15 кобелей — 6,24 пг (5,3–7,2 пг); для 5 петухов — 2,59 пг (1,9–3,4 пг); для 6 индюков — 3,7 пг (2,4–4,6 пг); для 87 мужчин — 7,26 пг (5,8–8,7 пг). Средние показатели количества ДНК и сухой массы головок спермиев для каждого вида исследованных животных и мужчин, по нашему мнению, являются наиболее оптимальными величинами характеризующими высокую плодовитость самцов и оплодотворяющую способность спермы.

Вариабильность сухой массы головок спермиев также может характеризовать качество спермы. Результаты экспериментов показали, что для исследованных эякулятов быков коэффициенты вариаций сухой массы головок спермиев были в пределах от 2,6% до 18,3% и зависели от качества эякулята и частоты дефектов спермиев. Аналогичные закономерности наблюдались и для спермы других видов животных и человека.

При облучении проб спермы электромагнитными волнами подвижность спермиев повышалась в тех случаях, когда начальная активность спермы была пониженной по сравнению с нормой. Облучение спермы до замораживания не улучшало ни подвижности спермиев, ни их оплодотворяющей способности [2, 3]. Реабилитирующее действие лазерного и микроволнового излучений проявлялось при воздействии на размороженную сперму — эффект был более выражен для проб с низким качеством спермы. Морфология спермиев после облучения не изменялась.

Выводы

1. Методы интерференционной микроскопии позволяют изучать разнo-качественность спермиев с хорошим разрешением и оценивать качество спермы и состояние репродуктивной системы животных и человека.

2. Высокой плодовитостью обладали быки, в спермиях которых содержалось от 2,6 до 3,2 пг ДНК.

3. В спермиях быков может содержаться до 56% и выше «мусорной» или junk-ДНК.

Литература

1. *Васильев В. С.* Совершенствование методов интерференционной микроскопии для изучения спермы в зависимости от породы, возраста и плодовитости быков: Автореф. Дисс. ... канд. биол. наук: 03.00.13 / НИИЖ Лесостепи и Полесья УССР. — Харьков. — 1978. — 24 с.

2. *Васильев В. С.* Интерференционная микроскопия облученной спермы / В. С. Васильев, Л. И. Васильева, Н. Л. Лисиченко, М. Й. Крамар, Г. Г. Юрченко // Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр. 15/ ХНАУ; ХГЗВА. — Х., — 2005. — С. 157–160.

3. *Васильев В. С.* Эффективность селекции подвижных спермиев из эякулята человека в зависимости от их морфометрических показателей до и после воздействия гипотермии и криоконсервации при разных состояниях сперматогенеза / В. С. Васильев, Г. Г. Юрченко, М. Й. Крамар, Н. Н. Чуб, Л. И. Луцкая // Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных: Сб. науч. тр. / ХНАУ; ХГЗВА. — Х., — 2009. — С. 131–139.

4. *Попадьин К. Ю.* Только 10 процентов информации в геноме используется. Вести.ру: «Наука 2.0». 6.11.2010.

5. *Урбах В. Ю.* Биометрические методы. — М., 1964. — 416 с.

Резюме

Количественные показатели спермиев животных и человека изучали методами интерференционной микроскопии. Количество ДНК в головках спермиев исследованных быков варьировало в пределах от 1,85 до 4,24 пг. Наивысшей плодовитостью обладали те быки, у которых в спермиях содержалось от 2,7 до 2,9 пг. Junk-ДНК может составлять до 56% от всего количества ДНК.

Досліджено морфофункціональні показники спермій тварин і людини методами інтерференційної мікроскопії. Кількість ДНК у головках спермій дослідних бугаїв варіювала у межах від 1,85 до 4,24 пг. Найвищу плодючість мали ті бугаї, в яких у сперміях містилось від 2,7 до 2,9 пг. Junk-ДНК, можливо, становить до 56% від всієї кількості ДНК.

Morphological and functional indices of animals and human spermatozoa with the help of interference microscopy have been studied. The quantity of DNA in oxen spermatozoa varied from 1.85 to 4.24 pg. The most reproductive were those oxen whose spermatozoa contained from 2.7 to 2.9 pg. Junk- DNA can contain to 56 per cent out of the whole quantity.

ГОРАЙЧУК И. В., СОЛОДЯНКИН А. С., ГЕРИЛОВИЧ А. П.

Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», Украина, 61023, Харьков, ул. Пушкинская, 83, e-mail: goraichuk@ukr.net

РАЗРАБОТКА РЕКОМБИНАНТНОГО ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЬНОГО ОБРАЗЦА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ РНК ВИРУСА ДИАРЕИ КРС С ПОМОЩЬЮ ПЦР

Возбудитель вирусной диареи крупного рогатого скота (ВД КРС) относится к роду *Pestivirus* и является часто регистрируемым заболеванием на территории Украины, приносящим серьезный экономический ущерб промышленному животноводству. Также следует отметить, что пестивирусы — это потенциальные контаминанты биопрепаратов и питательных сред, изготовленных с использованием сырья животного происхождения, а также спермы быков-производителей и др. [1].

В настоящее время особое внимание направлено на все биологические продукты, которые могут иметь даже отдаленный риск заражения людей. Хотя на сегодняшний день не существует доказанной причинно-следственной связи между животными и человеческими пестивирусными заболеваниями, вирусные антигены были обнаружены в стуле детей с диареей, а также выявлены специфические антитела к пестивирусам у лиц с ослабленным иммунитетом, у младенцев, рожденных с неврологическими расстройствами, и у людей, тесно контактировавших с инфицированным скотом [2].

В связи с увеличением объемов использования клеточных биотехнологий возрастает риск контаминации их продукции вирусами [3], таким образом, на сегодняшний день важное значение имеют методы контроля сырья животного происхождения, а также готовых препаратов по стерильности и исключению контаминации посторонними вирусами.

С этой целью предложено немало диагностических тестов, которые базируются на выявлении антигенов или нуклеиновых кислот вирусов. Однако учитывая биологические особенности вирусных заболеваний КРС, серологические тесты не всегда определяют внеклеточные и дефектные формы возбудителей, давая ложноотрицательные результаты [4]. Тесты для детекции генетического материала вирусов с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволяют проводить массовый скрининг без значительного расхода времени и дополнительных ресурсов для их использования [3].

Важной практической задачей для скрининга контаминации пестивирусами является исключение использования культуры вируса в качестве положительного контроля. Учитывая это, целью данной работы было конструирование рекомбинантного плазмидного вектора, несущего вставку участка гена нефункционального протеина 5' UTR возбудителя ВД КРС.

Материалы и методы

При конструировании рекомбинантной плазмиды использовали ампликоны гена 5' UTR возбудителя ВД КРС, полученные из образцов расплодков вируса диареи КРС штамма Oregon.

Экстракцию нуклеиновых кислот проводили с помощью метода аффинной сорбции [5]. Обратную транскрипцию с целью получения кДНК на матрице РНК осуществляли с использованием коммерческого набора «GenePak RT-PCR Core» (ООО «Лаборатория Изоген», Россия). Амплификацию проводили с помощью коммерческого набора «GenePak PCR Core» (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) и системы праймеров BVDV_324/326 [6].

Анализ результатов ПЦР проводили в лучах УФ-света после электрофореза в 1,5% агарозном геле при силе тока 30 mA и напряженности 15 В/см.

Для клонирования фрагмента кДНК в многокопийную синтетическую плазмиду pTZ57R/T использовали набор InsTAclone PCR Cloning Kit (Fermentas, Литва).

Клетки *Escherichia coli* DH10B трансформировали методом электропорации, а также продуктами лигазной реакции.

Скрининг полученных клонов проводили путем пересева одиночных колоний после трансформации на среду LB с последующей инкубацией в течение ночи при 37 °С. После чего проводили скрининг полученных клонов по электрофоретической подвижности плазмиды на наличие фрагмента гена 5' UTR и нуклеотидных последовательностей, комплементарных праймерам M13/pUC, для выявления клеток, несущих необходимую ДНК-вставку.

Результаты и обсуждение

На первом этапе проведенной работы были получены ампликоны гена нефункционального протеина 5' UTR возбудителя ВД КРС ожидаемого размера (288 п. н.) (рис. 1), которые затем были элюированы из геля и клонированы в ТА-вектор.

Сконструированная рекомбинантная плаزمида pTZR/T-VD (рис. 2) имела в своем составе фрагмент гена 5' UTR, нуклеотидную последовательность, комплементарную праймеру M13/pUC, для последующего отбора клеток, содержащих рекомбинантные молекулы ДНК, а также селективный ген β-лактамазы (bla (Ap^R)), обеспечивающий устойчивость к ампицилину. Таким образом при инкубации трансформированных клеток в присутствие антибиотика реплицировались только те клоны, которые содержали плазмиду (рис. 3).

Среди методов контроля клонирования следует отметить проведение ПЦР для идентификации трансгенных колоний *E. coli* среди общей массы колоний после высева трансформированных клеток на плотную среду. Этот метод позволяет исключить часто наблюдаемое при клонировании об-

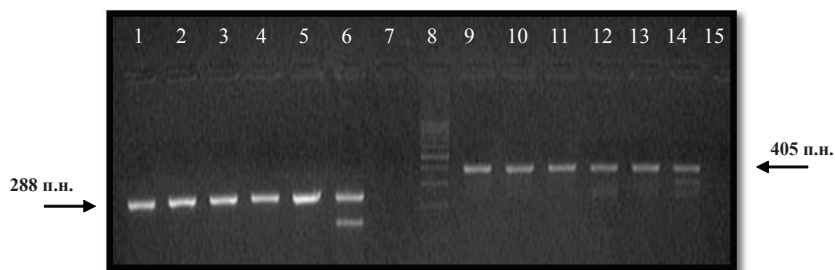
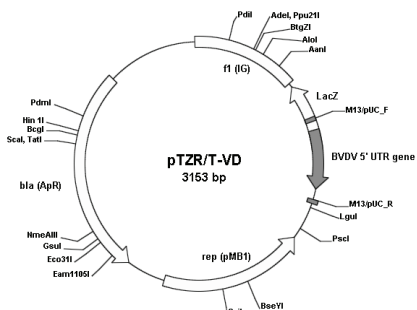
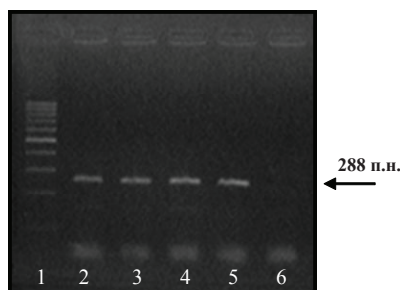


Рис. 3. Результаты амплификации с праймерами BVDV_324/326, M13_F/R: 1-6, 9-14 — трансгенные колонии *E. coli*, 8 — маркер молекулярной массы, 7, 15 — отрицательный контроль

разование артефактных структур и комплексов встраиваемых ампликонов, а также возможные нарушения структуры плазмидной ДНК.

Поэтому на заключительном этапе был проведен скрининг шести полученных колоний путем ПЦР с праймерами BVDV_F/R и M13_F/R (Рис. 3), который подтвердил наличие вставки в пяти колониях. Также было выявлено нарушение структуры плазмидной ДНК в одной из колоний.

Выводы

Сконструирована плаزمида PTZR/T-VD, которая была получена вследствие лигирования специфического фрагмента в ТА-вектор, с последующей трансформацией клеток *E. coli* рекомбинантной плазмидой.

Получена культура клеток *E. coli*, несущая рекомбинантную плазмиду со вставкой фрагмента гена нефункционального протеина 5' UTR возбудителя ВД КРС длиной 267 п. н.

Авторы выражают глубокую благодарность кандидатам ветеринарных наук Кучерявенко Р. А. и Кучерявенко В. В. за любезно предоставленные образцы расплодов вируса диареи КРС штамма Oregon.

Робота виконана при піддержке Swiss National Science Foundation, Project SCOPES NF number IZ730Z0_128050: «Epidemiology of BVD in Ukraine: Development of a control program».

Литература

1. Studer E., Bertoni G., Candrian U. Detection and characterization of pestivirus contaminations in human live viral vaccines // *Biologicals*. — 2002. — № 30. — P. 289–296.
2. Audet S. A., Crim R. L., Beeler J. Evaluation of vaccines, interferons and cell substrates for pestivirus contamination // *Biologicals*. — 2000. — № 28. — P. 41–46.
3. Герілович А. П. Застосування методу полімеразної ланцюгової реакції в системі контролювання контамінації сторонніми вірусами і мікоплазмами культур клітин та ветеринарних імунобіологічних препаратів // *Ветеринарна біотехнологія*. — 2008. — Бюл. № 13. — С. 333–339.
4. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals // O.I.E. 6th ed. — 2008. — V. 1–2. — 1343 p.
5. Boom R., Sol C., Salimans M. et al. Rapid and simple methods for purification of nucleic acids // *Journal of Clinical Microbiology*. — 1990. — № 28 (3). — P. 495–503.
6. Vilcek S., Herring A., Herring J. et al. Pestiviruses isolated from pigs, cattle and sheep can be allocated into at least three genogroups using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis // *Arch Virol*. — 1994. — № 136. — P. 309–323.

Резюме

Была сконструирована рекомбинантная плазмида pTZR/T-VD, несущая вставку участка гена нефункционального протеина 5' UTR возбудителя ВД КРС длиной 288 п. н. Наличие и направление вставки было подтверждено с помощью ПЦР-скрининга. Доказана возможность использования рекомбинантной плазмиды pTZR/T-VD в качестве положительного контроля для ПЦР.

Була сконструйована рекомбінантна плазміда pTZR/T-VD, яка містить вставку ділянки гена нефункціонального протеїну 5' UTR збудника ВД ВРХ довжиною 288 п. н. Наявність і напрям вставки були підтверджені за допомогою ПЛР-скринінгу. Доведено можливість використання рекомбінантної плазмиди pTZR/T-VD у якості позитивного контролю для ПЛР.

As a result the recombinant plasmid pTZR/T-VD carrying the 5' UTR untranslated region of BVDV with the length 288 b. p. was constructed. The existence and direction of the insert were confirmed by PCR-screening. The use of recombinant plasmids pTZR/T-VD as a positive control for PCR was proved

ЕМЕЦ З. В., МАМЕНКО А. М.

*Харьковская государственная зооветеринарная академия Минагрополитики Украины
Украина, 62341, Харьков, пгт Малая Даниловка, e-mail: zoya_emez@mail.ru*

ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МОЛОКА КОРОВ

Кроме общего содержания жира в молоке, важным критерием оценки молока является качество молочного жира. Известно, что жирнокислотный состав молока играет большую роль в питании человека, в особеннос-

ти ненасыщенные жирные кислоты, которые не синтезируются в организме человека.

Состав коровьего молока претерпевает значительные изменения в течение лактации, при этом важную роль в постнатальный период животных играют липиды молока. Это обусловлено как их энергетическим значением, так и биологическим действием. Многими авторами отмечается важная биохимическая роль полиненасыщенных жирных кислот (прежде всего незаменимых жирных кислот: линолевой, линоленовой, арахидоновой), содержащихся в липидах молока.

Выход и качество молочных продуктов, определяемые составом молока, структурой и свойствами его компонентов, находятся в большой зависимости от зоотехнических факторов. В некоторых случаях изменение состава и свойств сырого молока под влиянием физиологического состояния животных кормов и др. факторов настолько значительны, что оно становится не пригодным к переработке на молочные продукты.

Порода и возраст животных. Отдельные породы крупного рогатого скота оцениваются по надоям молока и его составу. От породы и возраста животного зависит молочная продуктивность, состав, физико-химические и технические свойства молока.

Колебания в составе молока коров одной и той же породы объясняются наследственными факторами, а также различными условиями содержания. Так как по наследству передается только способность к образованию определенного количества молока с примерно постоянным составом (молочная продуктивность), то условия содержания коров имеют большое значение для ее реализации.

Методика исследований

Для изучения зависимостей жирнокислотного состава молока от некоторых генетических факторов в о/х «Украинка Слобожанская» отбирали пробы сборного молока от коров разных генетических групп. Фиксировали также условия и сезон взятия проб (зима, весна, лето, осень).

Все пробы были подвергнуты жирнокислотному анализу. Жирнокислотный состав молока определяли методом газожидкостной хроматографии совместно с лабораторией экомониторинга и оценки качества кормов и продукции животного происхождения ИТ НААН. При этом определяли содержание 8 насыщенных (декановая, монодекановая, лауриновая, тридекановая, миристиновая, пентадекановая, пальмитиновая, стеариновая) и 4 ненасыщенных (гептадеценовая, олеиновая, линолевая, линоленовая) жирных кислот.

Полученные результаты были проанализированы путем проведения серии однофакторных дисперсионных анализов влияния отца, породы и сезона года на содержание каждой из указанных жирных кислот в жире молока.

Результаты исследований

Был проанализирован жирнокислотный состав молока в зависимости от породы украинская черно-пестрая молочная и украинская красно-пест-

рая молочная. В исследуемых породах общая сумма как насыщенных, так и ненасыщенных жирных кислот находится почти на одинаковом уровне.

Из ненасыщенных жирных кислот в летний и осенний сезоны в молоке нет гептадециновой кислоты, а линоленовой кислоты нет в молоке в зимний сезон у обоих пород. В молоке украинской черно-пестрой молочной породы последняя (линолевая кислота) отсутствует в весенний период. Ненасыщенных жирных кислот в молоке меньше содержится в зимний сезон (24,5 % от общего количества жирных кислот); весной процент их содержания больше на 4 % по сравнению с зимой, в летний сезон их содержание находится примерно на том же уровне, что и весной. В осенний сезон удельная концентрация ненасыщенных жирных кислот повышается до 30–27 % от общего количества жирных кислот в молоке.

Таблица 1

Содержание некоторых жирных кислот в жире молока дочерей разных быков

Отец	C _{10:0} — декановая	C _{16:1} — гептадеци- новая	C _{18:1} — олеиновая	C _{18:2} — линолевая	C _{18:3} — ли- ноленовая
Беркут	-	1,74	23,39	4,81	0,82
Двойник	4,77	0,93	19,70	4,63	0,79
Док	7,44	0,84	20,25	6,83	0,41
Зевс	1,07	2,14	22,71	4,36	0,72
Именит	2,06	1,85	23,79	5,33	0,77
Пион	2,17	2,24	22,68	4,99	1,12
Соболь	-	2,50	24,72	7,02	0,60
Султан	1,31	2,17	17,36	5,73	0,84
Степень влияния	0,270	0,072	0,198	0,167	0,124

Насыщенные жирные кислоты составляют большую часть жирных кислот. Их содержание на протяжении всего года находится в пределах 70–75 % по обоим изучаемым породам.

В результате проведенного анализа влияния отцов на состав жирных кислот в молоке определено, что их влияние значительное.

Так, степень влияния отцов на содержание изучаемых жирных кислот в молоке их дочерей колеблется от 7,2 % (гептадеценная кислота) до 27 % (декановая кислота). Жизненно важными для организма человека являются олеиновая, линолевая, линоленовая жирные кислоты. Влияние отцов на их содержание в молоке составляет 19,8 %, 16,7 %, 12,4 % соответственно.

На примере быка Султана хорошо видны изменения содержания жирных кислот в зависимости от сезона года. Так, в весенний сезон в молоке его дочерей содержатся декановая и монодекановая кислоты, которых в другие сезоны года нет. В зимний и весенний сезон в составе жирных кислот молока нет линоленовой кислоты, однако достаточно большое содержание лауриновой, миристиновой, пальмитиновой, стеариновой, олеиновой жирных кислот.

Следует отметить, что в осенний и летний сезоны некоторых ненасыщенных жирных кислот, которые не синтезируются в организме человека, по сравнению с весенним и зимним сезонами, больше: олеиновой кислоты на 5%, линолевой кислоты на 3%, линоленовой кислоты на 0,5–0,8%. В целом, самым низким содержанием ненасыщенных жирных кислот характеризовалось молоко, полученное зимой.

Выводы

В результате исследований выяснилось, что большее влияние на содержание жирных кислот в молоке оказывают отец, а порода, хотя и влияет, но незначительно — от 0,1% (лауриновая кислота) до 5,9% (пентадекановая кислота).

Литература

1. Антонова С. И. Динамика секреции линолевой кислоты с молоком и ее метаболизм в организме коров: Автореф. дис. канд. биол. наук: 03.00.13 / С. И. Антонова; Всероссийский НИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйств. животных. — 1995. — 25 с.
2. Макарова Т. Б., Изменение жирнокислотного состава молозива и молока в начальный период лактации / Макарова Т. Б., Крапивкин Б. А., Жирнова К. Г., Зайцев С. У. / Вопросы физико-химической биологии в ветеринарии: Сб. науч. тр. / Мос. гос. акад. вет. мед. и биотех.; Под ред. Е. С. Воронина и др. — Москва, 2002. — С. 35–41.
3. Макарова Т. Б. Изменение жирнокислотного состава молозива и молока в начальный период лактации / Макарова Т. Б., Крапивкин Б. А., Жирнова К., Зайцев С. У. / Мат. всеросс. науч.-производ. конф. по актуальным проблемам ветеринарии и зоотехнии. — Казань, 2002 — Часть 2. — С. 316–318.
4. Макарова Т. Б. Жирнокислотный состав молозива и молока коров черно-пестрой породы/Макарова Т. Б., Крапивкин Б. А., Зайцев С. У./Мат. всеросс. науч.-техн. конф. «Наука и образование». — Мурманск, 2003. — Часть 4. — С. 170.
5. Плохинский М. А. Биометрия. — Изд. 2-е. — М.: Ленинские горы, 1969. — 367 с.
6. Хоменко В. И. Гигиена получения и ветсанконтроль молока по ГОСТу. — К.: Урожай, 1985. — 100 с.

Резюме

В статті висвітлено вплив генетичних факторів на жирнокислотний склад молока корів. Отримані результати були проаналізовані шляхом проведення серії одинфакторних дисперсійних аналізів впливу батька, породи і сезону року на вміст кожної з вказаних жирних кислот в жирі молока.

В статті освіщено вплив генетических факторів на жирнокислотний состав молока коров. Полученные результаты были проанализированы путем проведения серии однофакторных дисперсионных анализов влияния отца, породы и сезона года на содержание каждой из указанных жирных кислот в жире молока.

In the article influence of genetic factors is lighted up on zhirkokislотноy composition of milk of cows. The got results were analysed by the leadthrough of series of onefactor analyses of variance of influence of father, breed and season of year on maintenance to each of the indicated fat acids in fat of milk.

НЕИЗВЕСТНАЯ ФУНКЦИЯ ПЧЕЛИНОЙ МАТКИ В ГНЕЗДЕ

Медоносная пчела *Apis mellifera* L. относится к общественным насекомым, коммуникационные системы которых особенно сложны. В настоящее время в определенной степени расшифрован сложный язык медоносных пчел. Исключительно важную роль в их жизни играют запахи. Они несут ценную информацию, которая необходима для сохранения жизни пчел, определяют различные формы их поведения и взаимоотношений. Уникальная роль химического языка животных, в первую очередь насекомых, для их внутривидового взаимодействия была доказана в середине XX столетия, благодаря успехам и возможностям микроаналитической химии и химии природных соединений, а вещества, выделяемые для этого общения, назвали феромонами. Для разных насекомых, в том числе и для медоносной пчелы, известны феромоны самого различного действия: половые, следовые, агрегационные, тревоги, метчики территории и др. В большинстве случаев феромоны выделяют специализированные железы, расположенные в частях тела насекомого. Наиболее важными в жизнедеятельности медоносных пчел оказались вещества, выделяемые мандибулярными железами матки. Пахучее маточное вещество, разносимое пчелами по всему гнезду, — то организующее начало, которое придает слаженность действиям пчелиной семьи [1].

В последующих исследованиях выяснили, что маточное вещество пчелиной матки — феромон с множеством функций. Во-первых, оно привлекает пчел к матке. Во-вторых, поглощая с тела матки активные вещества, пчелы подавляют развитие яичников у рабочих особей. В результате только матка во всем улье оказывается способна откладывать оплодотворенные яйца. В-третьих, маточное вещество подавляет у обитателей улья рефлекс, побуждающий их строить ячейки для выкармливания будущей матки. В-четвертых, оно привлекает самцов к матке во время ее брачных полетов; в-пятых, стимулирует скопление и способствует миграции роевых пчел [9].

В данной статье мы демонстрируем ранее неизвестную функцию пчелиной матки.

В опытах на белых мышах и крысах мы выявили значительные фармакологические свойства полного синтетического аналога маточного вещества медоносных пчел — 9-оксо-2 Е-деценной кислоты (9-ОДК): антибактериальные (на инфекциях, вызванных золотистым стафилококком, протеем, кишечной и синегнойной палочками), противовоспалительные (на моделях формалинового, белкового и лидокаинового воспалений), как ускорителя

заживления лоскутных ран и термических ожогов, антидота и иммуномодулятора [3]. На основе полученных данных выдвинули гипотезу о возможности выполнения маткой лечебной функции.

Материалы и методы

В опытах 2002 г. шести пчелиным семьям, больным американским гнильцом, скормили трехкратно, с интервалом в трое суток по 0,5 л 50 %-го сахарного сиропа, содержащего 2 мл препарата ТОС-3 (Апирой) [4]. Затем все обработанные семьи начали активно отстраивать вошину, а через 10 сут. признаки поражения открытого расплода исчезли. В дальнейшем во всех семьях старых маток заменили молодыми, удалили соты, на которых ранее был больной расплод, семьи пересадили в продезинфицированные ульи. Степень поражения расплода фиксировали с помощью цифровой фотосъемки, определяя число больных личинок на один расплодный сот.

Летом 2003 г. аналогичные эксперименты продолжили. Для этого 15 пчелиных семей, заболевших европейским гнильцом, разделили на три группы. Поставили цель — вылечить больных пчел без применения антибиотиков и полного перегона их на вошину. До лечебной обработки перегон семей на вошину был невозможен, так как они ее не отстраивали. Больных пчел подкармливали в дозе 2 мл препарата ТОС-3 в 100 мл 50 %-го сахарного сиропа. Семей первой группы — однократно, второй — двукратно; третьей — трехкратно с интервалом пять суток.

Результаты

Эффект от применения феромонного препарата ТОС-3 наблюдали уже после однократной подкормки. Двукратная обработка препаратом ТОС-3 снижала степень поражения личинок в 5,6 раза с высокой степенью достоверности ($P > 0,99$). Пчелиные семьи после лечебных обработок начинали активно отстраивать соты — от 3 до 8 (в среднем 4,8).

Через 3...10 сут. после обработки степень поражения расплода на свежестроенных сотах сначала резко снизилась, а затем признаки болезни исчезли. Соты с больным расплодом постепенно по одному убирали из гнезд, устанавливая взамен рамки с вошиной. Пчелиные гнезда полностью не обновляли, то есть в ульях оставались прошлогодние соты. Через месяц после начала обработки во всех семьях отсутствовали признаки болезни расплода. Так как в пчелиных гнездах находились инфицированные соты, то можно говорить об увеличении устойчивости пчел к заболеванию под воздействием препарата.

Летом 2008 г. больных аскосферозом пчел (15 семей, разделенных на три группы) подкармливали двукратно с интервалом в 10 сут. Первой группе скормливали сироп (1,5 кг сахара на 1 л воды) с 50 мл йодиола; второй — сироп с 1 мл ТОС-3 и 1 мл препарата ТОС-БИО на основе 10-гидроксид-2 Е-деценной кислоты [7]; третьей — сироп с 1 мл ТОС-3, 1 мл ТОС-БИО и 50 мл йодиола. В результате в августе — начале сентября отсутствовали следы аскосфероза, соты не заменяли. Таким образом, совместное

применение ТОС-3, ТОС-БИО и йодианола позволяет избавиться от заболевания. Согласно данным, через 25 дн. с начала обработки препараты ТОС-3 и ТОС-БИО уменьшали поражение расплода на $45,6 \pm 7,18$ личинки в пересчете на один расплодный сот, то есть в 3,53 раза с высоким уровнем достоверности ($t_d = 8,86$; $P > 0,999$); через 20 дн. — на $85,0 \pm 4,39$ личинки на один расплодный сот — в 12,5 раза с высоким уровнем достоверности ($t_d = 24,41$; $P > 0,999$).

Мы также провели опыты по воздействию на клещей варроа препарата Апимил на основе 9-ОДК и компонентов железы Насонова [5]. Отобрали две группы по пять пчелиных семей. Определяя степень заклещеванности до и после применения препарата Апимил, использовали метод эфир-диагностики варроатоза [2].

В конце опыта после обработки семей пчел Апимилом заклещеванность в подопытной группе была на 31,2% (2001 г.) и на 27,8% (2006 г.) меньше, чем в контроле, при статистической достоверности — $P > 0,95$.

Данный эффект можно объяснить дезориентацией клещей под действием имеющих в Апимиле компонентов феромона железы Насонова, в результате чего они временно теряют способность распознавать внутриульевых пчел в качестве своего идеального хозяина [8]. При этом часть клещей переходит с ульевых на лётных пчел и погибает во время лёта пчелосборщиц. Кроме того, по нашему мнению, снижение числа клещей варроа зависит от дополнительно внесенного в семью пчел феромона матки при обработке Апимилом. Так, в опытах В.И. Маслениковой [6] с одно- и двухлетними матками в пораженных клещом семьях обнаружили снижение численности выплода паразитов в семьях с однолетними матками в результате увеличения времени линьки дейтонимф, обусловленного повышенным выделением маточного вещества. Данный способ борьбы с варроатозом можно включить в комплекс лечебных мероприятий.

По результатам биологических испытаний феромонные композиции на основе 9-ОДК впервые демонстрируют высокую фармакологическую активность синтетического феромона матки на медоносных пчелах: противоварроатозное действие, антибактериальную и фунгицидную активность по отношению к болезням расплода — европейскому и американскому гнильцам и аскоферозу.

Литература

1. Амирханов Д. В., Ишмуратова Н. М., Яковлева М. П., Ишмуратов Г. Ю., Толстиков Г. А. Феромоны медоносных пчел // Башкирский химический журнал. — 2004. — Т. 11, № 3. — С. 5–18.
2. Бородачев А. В., Бурмистров А. Н., Касьянов А. И. и др. Методы проведения научно-исследовательских работ в пчеловодстве. — Рыбное: НИИП, 2002.
3. Ишмуратов Г. Ю., Ишмуратова Н. М., Толстиков Г. А., Исмагилова А. Ф., Шарипов А. А. Новое о «маточном веществе» медоносных пчел // Вестник РАС-ХН. — 2003. — № 4. — С. 81–82.

4. Маннапов А.Г., Амирханов Д.В., Ишмуратов Г.Ю., Харисов Р.Я., Ишмуратова Н.М. Отечественные феромонные препараты // Пчеловодство. — 1997. — № 4. — С. 11–13.

5. Ишмуратов Г.Ю., Маннапов А.Г., Харисов Р.Я. и др. Препарат Апимил для привлечения и поимки пчелиных роев / Патент РФ № 2146868, опубли. в БИ № 9 от 27.03.00 г.

6. Масленникова В.И. Структурные элементы популяции клещей *Varroa jacobsoni* Oudemans, их возвратная репродуктивная активность и механизм адаптации к изменениям биотических и абиотических факторов в гнезде пчел *Apis mellifera* L. — Автореф. дис... д-ра биол. наук. — Москва, 2002.

7. Тамбовцев К.А., Ишмуратова Н.М. Феромон расплода как синергист в привлечении пчел препаратами Апимил и ТОС-БИО // Пчеловодство. — 2010. — № 8. — С. 10–11.

8. Hoppe H., Ritter W. The influence of the nasonov pheromone on the recognition of house bees and foragers by *Varroa jacobsoni* // Apidologie. — 1988. — Т. 19, № 2. — Р. 165–172.

9. Simpson J. Queen perception by honeybee swarms // Nature. — 1963. — V. 199. — Р. 94–95.

Резюме

Впервые для синтетически полученного многофункционального феромона пчелиной матки — 9-оксо-2 Е-деценовой кислоты — выявлены ранее неизвестные значительные фармакологические свойства в гнезде пчел: противоварроатозное действие, антибактериальная и фунгицидная активность при гнильцовых заболеваний и аскосферозе.

For the first time for the synthetically derived multifunctional pheromone of queen bee — 9-oxo-2E-decenoic acid — revealed previously unknown significant pharmacological properties in a nest of bees: anti-varroatosis action, anti-bacterial and fungicidal activity at foul brood diseases and askosferoze, indicating that the implementation of queen of the hive but are already well-known features and medical.

¹ КОСТЕНКО С. А., ¹ КОНОВАЛ О. Н., ² СИДОРЕНКО Е. В., ³ КАМЫШ Н. А.,
³ МИХАЙЛОВА М. Е.

¹ *Институт разведения и генетики животных НААН Украины*

Украина, 08321, Киевская обл., Бориспольский р-н, с. Чубинское, ул. Погребняка, 1,

² *Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины*

Украина, 03022, г. Киев, ул. Героев Оборона, 15, корп. 1, к. 89, Swetakostenko@mail.ru

³ *Институт генетики и цитологии Национальной академии наук Беларуси*

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27

СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ СВИНЕЙ УКРАИНЫ И БЕЛАРУСИ ПО ГЕНУ РЕЦЕПТОРА ЭСТРОГЕНА (*ESR*)

Ускорение селекционно-племенной работы в животноводстве возможно посредством осуществления отбора племенных животных на основе выявления полиморфизма генов хозяйственно полезных признаков [1].

Ген рецептора эстрогена — один из генов, полиморфизм которых связан с репродуктивными качествами, как свиноматок, так и хряков. Однако, до сих пор как в Украине, так и в Беларуси исследования по этим генам имеют спорадический характер и не охватывают основного поголовья животных. На сегодня неисследованными остаются популяционно-генетические процессы, происходящие в связи с отбором животных [2].

Крупную белую породу свиней разводят в 117 странах мира, она является одной из самых распространенных коммерческих пород в Украине и Беларуси [3].

В связи с этим, целью нашей работы было проведение мониторинга популяций крупной белой породы свиней в Украине и Беларуси по гену рецептора эстрогена (*ESR*).

Материалы и методы

Проводили определение генотипов популяций свиней крупной белой породы, содержащихся в следующих хозяйствах Беларуси: ЧУП «Золак-Агро» Гомельской обл. (n = 120), С/к «Яжевичи», г. Клецк (n = 198), ЗАО «Советская Беларусь» (n = 97), РСУП С/к «Багратионовский» (n = 179), и Украины: ОАО «Маки», с. Макеевка, Белоцерковского р-на Киевской обл. (n = 25); СП ООО «Нива Переяславщины», Переяслав-Хмельницкого района Киевской обл. (n = 36), ООО «Шпили» Иванковского р-на Киевской обл. (n = 47), СОО «Агрокомбинат Калита», Броварского р-на Киевской обл. (n = 73); учебно-исследовательское хозяйство «Агростанция Митница» НУБиП Украины (n = 30), ОАО «Агрикор» Борзнянского района Черниговской обл. (n = 31).

Определение генотипов животных проводили в 1) лабораториях генетики животных Института генетики и цитологии НАН Беларуси г. Минск; 2) Украинской лаборатории качества и безопасности продукции АПК НУ-

БиП Украины (с. Чабаны); 3) Института разведения и генетики животных НААН (с. Чубинское).

Геномная ДНК свиней была выделена с помощью комплекта реактивов «ДНК-сорб В» (АмплиСенс, Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Анализ полиморфизма исследованных генов проводили методом ПЦР-ПДРФ (полимеразная цепная реакция, полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) по методикам [4].

Рестрикцию продуктов ПЦР проводили при использовании эндонуклеазы *Pvu II* согласно рекомендациям производителя.

Визуализацию электрофореграмм проводили с помощью трансиллюминатора в УФ свете. Статистическую обработку результатов осуществляли путем анализа распределения аллельных и генотипических частот, отклонения от состояния равновесия согласно закону Харди-Вайнберга [5].

Результаты и обсуждение

Анализ соответствия полученных нами частот генотипов с их теоретически ожидаемым распределением согласно закону Харди-Вайнберга свидетельствует о том, что часть из исследованных популяций характеризуются достоверно высокой частотой гетерозигот ($p < 0,001$).

Интересно, что самый высокий показатель отклонения (χ^2) был характерен для товарных стад, крупной белой породы («Агростанция Митница», «Агрикор»). Это может быть обусловлено отсутствием линейного разведения, которое в племенных хозяйствах приводит к высокому уровню гомозиготности.

Гетерозиготность — один из основных параметров динамики генетического состава популяции. На ее изменение влияет целый ряд факторов: мутационный, отбор, дрейф генов [5].

В связи с этим, оценка гетерозиготности актуальна для популяционно-генетических исследований. Для количественного отражения отклонения частот гетерозиготных генотипов от теоретически ожидаемого мы рассчитывали индекс фиксации Райта (F_{is}), который отображен на рисунке 1.

Относительно исследованных нами племенных хозяйств следует отметить, что наибольшее отклонение от теоретически ожидаемого распределения (критерий $\chi^2 = 7,57$) характерно для популяций свиней СОАО «АК «Калита». Это может свидетельствовать о наличии отбора в пользу гетерозигот ($FIS = -0,322$), поскольку по нашим данным, гетерозиготы *AB* по гену *ESR* имеют преимущества как за воспроизводимыми, так и за откормочными качествами. Хряки, носители генотипов *BB* и *AB*, пород крупная белая и ландрас характеризовались лучшими показателями по сравнению с гомозиготными особями *AA* по объему якулята, концентрацией и количеством сперматозоидов в якуляте. Свиноматки крупной белой породы генотипа *AB* имели на 4,04 мм выше показатели по толщине шпика нежели носители генотипа *BB* ($p < 0,01$) [6].

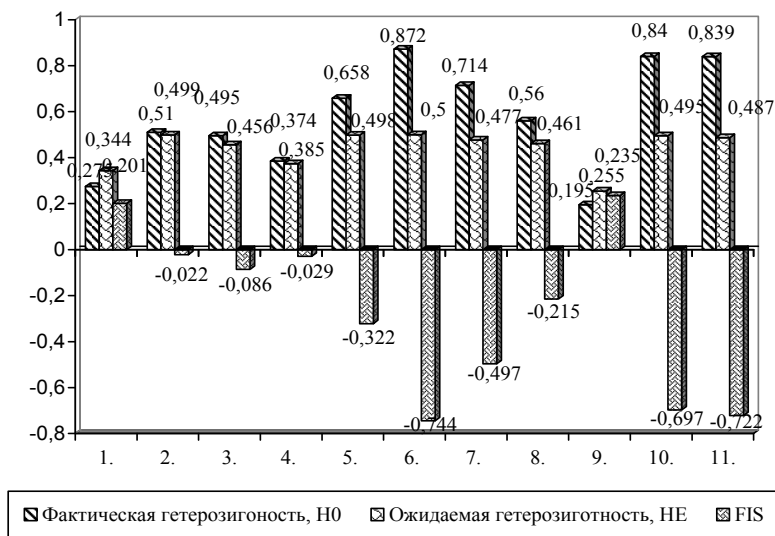


Рис. 1. Гетерозиготность исследованных популяций и индекс фиксации Райта (F_{IS})

Следует отметить, что обнаруженное отклонение в СОАО «АК Калита» было характерно и для крупной белой породы, и для ее терминально-го кросса *alba*.

В исследованных популяциях свиней по гену *ESR* мы наблюдали высокую фактическую (H_0) гетерозиготность по сравнению с теоретической (H_E) (рис. 1), разброс которой колебался от 0,385 (С/к «Багратионовский») до 0,872 (ООО «Шпили»), 0,714 и 0,658 (крос *alba*, и крупная белая) СОАО «АК Калита».

В связи с этим, индекс фиксации Райта (F_{IS}), в подавляющем большинстве исследованных популяций, имел отрицательное значение. Только у свиней популяций С/к «Яжевичи» (-0,022), ЧУП «Золак-Агро» (0,201), С/к «Багратионовский» (-0,029, свиноматки) СП ООО «Нива Переяславщины» (0,235, свиноматки) выявлены более сбалансированные показатели фактической и ожидаемой гетерозиготности по сравнению с другими исследованными нами популяциями.

Высокая гетерозиготность в исследованных нами популяциях свидетельствует о том, что в селекционной работе происходит постоянный отбор

животных, изменяется генетическая структура стад в желаемом для производства направлении, в частности отбор свиноматок производится по более высоким показателям многоплодия. Таким образом, увеличивается количество носителей аллеля *B* гена *ESR*. Кроме этого, в хозяйствах проводится работа, направленная на получение эффекта гетерозиса: использование межлинейных гибридов (терминальные хряки *alba*) в качестве производителей. Подавляющее большинство исследованных нами хряков являются гетерозиготными по гену *ESR*.

В среднем, в стадах исследованных популяций племенных свиней частота аллеля *B* гена *ESR* колеблется в пределах от $0,150 \pm 0,027$ (СП ООО «Нива Переяславщины») до $0,534 \pm 0,020$ (СОО «АК» Калита), а частота аллеля *B* гена *ESR* терминального кросса *alba* этого же предприятия достигает $0,60 \pm 0,030$. Существенными оказались различия по частотам аллелей и генотипов между различными группами исследованных животных в некоторых хозяйствах. Так, в ЧУП «Золак-Агро» частота аллеля *B* в выборке основных свиноматок оказалась самой высокой в стаде и составила $0,325 \pm 0,025$, в ремонтном — $0,143 \pm 0,027$, а у хряков — $0,08 \pm 0,026$. В связи с тем, что у хряков низкая частота аллеля *B*, а группа ремонтных свиноматок характеризуется промежуточным значением этого показателя, можно сделать вывод, что из ремонтного стада в основную группу отбирались животные с желательными генотипами, а производители в данном случае оказались такими, что могут ухудшать у потомков репродуктивные качества.

Поголовье свиней С/к Яжевичи характеризуется более высокой частотой аллеля *B* у всех исследованных группах животных. Очевидно, что анализ групп животных, осуществляемый не в течение определенного периода, а одновременно, позволяет лишь сделать некоторые прогнозы и не может в полной мере оценить вклад в генофонд исследованного нами ремонтного стада животных, которые на время изучения уже выбыли.

Четыре исследованные популяции свиней Беларуси по гену *ESR*, в целом характеризуются широким размахом частот аллеля *B*: от $0,08 \pm 0,026$ до $0,40 \pm 0,085$ у хряков, $0,179 \pm 0,024$ – $0,500 \pm 0,014$ у основных свиноматок, $0,143 \pm 0,027$ – $0,614 \pm 0,023$ у ремонтного молодняка. У семи исследованных популяций свиней в Украине определили следующее частоты аллеля *B* гена рецептора эстрогена: $0,15 \pm 0,027$ – $0,568 \pm 0,025$ среди племенных свиноматок, $0,500 \pm 0,026$ – $0,58 \pm 0,029$ — в товарных хозяйствах в среднем по стаду. Следует отметить, что среди исследованных хряков хозяйств Украины в отличие от популяций Беларуси были обнаружены животные с генотипом *BB*. Различия между исследованными популяциями могут свидетельствовать о различных направлениях отбора в хозяйствах. Высокие показатели частот аллеля *A*, характерные для животных Беларуси, могут быть связаны с мясным направлением продуктивности исследованных животных. Ведь известно, что колебания частоты аллеля *B* в популяции-

ях крупной белой породы составляет 0,30–0,49 [6–9], а у породы ландрас, например, 0,06–0,20 [10–11].

Выводы

Выявлен широкий уровень вариативности частот аллелей и генотипов гена *ESR* во всех 11 исследованных популяциях свиней крупной белой породы, содержащихся в Украине и Беларуси. Подавляющее большинство из исследованных популяций свиней характеризуется высокой фактической (H_o) гетерозиготностью по сравнению с теоретически ожидаемой. Найдены различия по частотам аллелей и генотипов гена *ESR* между различными группами животных даже в пределах одного хозяйства. Четыре исследованные популяции свиней Беларуси по гену *ESR* в целом характеризуются широким размахом частот аллеля *B* (от $0,08 \pm 0,026$ до $0,40 \pm 0,085$ у хряков, $0,179 \pm 0,024$ – $0,500 \pm 0,014$ в основных свиноматок, $0,143 \pm 0,027$ – $0,614 \pm 0,023$ у ремонтного молодняка). У семи исследованных популяций свиней в Украине были выявлены следующие частоты аллеля *B* — $0,15 \pm 0,027$ – $0,568 \pm 0,025$ среди племенных свиноматок, $0,500 \pm 0,026$ – $0,58 \pm 0,029$ — в товарных хозяйствах в среднем по стаду.

Перспективы дальнейших исследований в этой области на наш взгляд заключаются в продолжении мониторинга популяций различных пород по генам, полиморфизм которых ассоциируется с продуктивностью животных.

Работа проведена при поддержке Государственного фонда фундаментальных исследований Украины.

Литература

1. Копилов К. В. ДНК-диагностика у селекційно-племінній роботі / К. В. Копилов // Методологія наукових досліджень з питань селекції, генетики та біотехнології у тваринництві. Матеріали науково-теоретичної конференції, присвяченої пам'яті академіка УАН Валерія Петровича Бурката. — К.: Аграрна наука, 2010. — С. 68–69.
2. Саєнко А. М. Поліморфізм QTL-генів в породах свиней різного напрямку продуктивності / А. М. Саєнко, В. М. Балацький // Науковий вісник НУБіП України. — К, 2009. — № 138. — С. 272–279.
3. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства / ФАО, 2010. ВИЖ РАСХН, 2010. Москва // Перевод с англ. ФАО. — 2007. — С. 67.
4. Методические рекомендации по идентификации аллельных вариантов генов, влияющих на хозяйственно-полезные признаки *Sus scrofa*: Методическое пособие / О. М. Коновал, Н. А. Камыш, И. С. Бояринцева, Н. М. Волчок, Е. А. Климов, В. Г. Спиридонов, М. Е. Михайлова, М. С. Краснов, С. Д. Мельничук, Г. Ю. Косовский. — Москва, 2011. — 33 с.
5. Животовский Л. А. Популяционная биометрия / Л. А. Животовский. — М.: Наука, 1991. — 271 с.
6. Сидоренко О. В. Поліморфізм генів рецепторів естрогену (*ESR*) і меланокортину-4 (*MC4R*) у свиней: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 03.00.15 «Генетика» / О. В. Сидоренко. — Чубинське, 2011. — 20 с.

7. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines / T.H. Short, M.F. Rothschild, O.I. Southwood [et al.] // *Anim. Sci.* — 1997. — Vol. 75. — P. 3138–3142.

8. Terman A. Estrogen receptor gene (*ESR*) and semen characteristics of boars / A. Terman, M. Kmiec and D. Polasik // *Arch. Tierz., Dummerstorf.* — 2006. — Vol. 49, № 1. — P. 71–76.

9. Журина Н. В. Влияние гена эстрогенового рецептора на репродуктивные признаки свиноматок крупной белой и белорусской мясной пород / Н. В. Журина // *Весті нацыянальнай акадэміі навук Беларусі.* — 2006. — № 4. — С. 71–74.

10. Kmiec M. Study on a relation between estrogen receptor (*ESR*) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed / M. Kmiec, J. Dvorak, I. Vrtkova // *Czech J. Anim. Sci.* — 2002. — Vol. 47, № 5. — P. 189–193.

11. Effect of estrogen receptor, follicle stimulating hormone and myogenin genes on the performance of Large White sows / P. Humpolíček, T. Urban, V. Matoušek, Z. Tvrdoň // *Czech J. Anim. Sci.* — 2007. — Vol. 52, № 10. — P. 334–340.

Резюме

Виявлен поліморфізм 11 популяцій свиней крупної білої породи по гену рецептора естрогена (*ESR*) в Україні та Білорусі. Подавляюче більшість із досліджуваних популяцій свиней характеризується високою фактичною (H_0) гетерозиготністю по сравнению з теоретично очікуваною.

Виявлено поліморфізм 11 популяцій свиней великої білої породи по гену рецептора естрогену (*ESR*) в Україні та Білорусі. Переважна більшість з досліджених популяцій свиней характеризується високою фактичною (H_0) гетерозиготністю в порівнянні з теоретично очікуваною.

Polymorphism revealed 11 populations of pigs of large white rock on the estrogen receptor gene (*ESR*) in Ukraine and Belarus. The vast majority of the populations studied is characterized by high fever actual (H_0) heterozygosity than expected theoretically.

МИХАЙЛОВА М. Е., ТИХАНОВИЧ Н. И., БЕЛАЯ Е. В., ВОЛЧОК Н. М.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,

Республика Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27,

e-mail: M. Mikhailova@igc.bas-net.by

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА (CSN3) И СВЯЗЬ ЕГО АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ

В современных условиях максимальный селекционный прогресс достигается при использовании в племенной работе принципов крупномасштабной селекции, базирующейся на разработке и реализации оптимизированной селекционной программы, обеспечивающей максимальный генетико-экономический эффект на основе популяционной генетики. Генотипирование животных с помощью ДНК-маркеров позволяет найти корреляции между аллельными вариантами генов и хозяйственно-полезными признаками и целенаправленно вести селекцию на выявление и закрепле-

ние в популяции ценных аллелей. ДНК — маркеры — это аллельные варианты генов, напрямую или косвенно связанные с продуктивными и адаптационными признаками животных, с устойчивостью или восприимчивостью к заболеваниям. Выявление предпочтительных с точки зрения селекции вариантов таких генов позволяет дополнительно к традиционному отбору животных, например, по содержанию жира в молоке, по уровню удоя, проводить селекцию по генотипу.

Во многих странах Европы и США уделяют особое внимание высокой белково-молочности молока. При оценке коров важное значение имеет не только высокая молочность, но и качество молока, то есть содержание в нем жира, белка и других фракций.

В соответствии с классическим разделением молочных белков, их объединяют в две группы: казеин и белки сыворотки молока. На долю казеина приходится 82 процента. Генотипирование крупного рогатого скота по гену каппа-казеина, позволяет выявить ценные для селекции генотипы животных (генотипы AB-CSN3 и BB-CSN3), что способствует повышению содержания белка в молоке и улучшению его технологических свойств.

Казеин (CSN3) — основной белок коровьего молока, представленный несколькими фракциями (альфа, бета, каппа и гамма) содержится в виде кальциевой соли (казеината кальция), относится к сложным белкам (фосфопротеинам), придает молоку белый цвет. При створаживании молока казеин образует основную массу творога [1].

Известно семь аллельных вариантов каппа-казеина КРС: А, В, С, Е, F, G, Н. Из этого спектра вариантов выделяют В-аллельный вариант, который ассоциируется с более высоким содержанием белка в молоке и более высоким выходом творога и сыра, а так же лучшими коагуляционными свойствами молока [2–6]. Имеются данные, что использование для производства твердых сыров молока от коров с предпочтительным генотипом по гену каппа-казеина, дает увеличение выхода сыра на 6% [3]. Практика сыроделия показывает, что твердые сыры можно приготовить только из молока коров с BB-генотипом по гену каппа-казеина.

В связи с вышеизложенным, нами была проведена оценка поголовья крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы по аллельным вариантам гена каппа-казеина.

Материалы и методы

Для анализа были использованы образцы свежемороженой спермы и крови коров белорусской черно-пестрой породы госплемпредприятий РБ.

Для амплификации фрагмента гена **CSN3** используют праймеры (Vocas A и Vocas B), гомологичные высококонсервативным зонам гена каппа-казеина крупного рогатого скота [3].

Vocas A: 5'-ATG TGC TGA GCA GGT ATC CTA GTT ATG G-3';

Vocas B: 5-CCA AAA GTA GAG TGC AAC AAC ACT GG-3'.

ПЦР проводят в амплификаторе в конечном объеме 25 мкл в следующем режиме: «горячий старт» — 3 мин 94 °С. Затем 35 циклов амплификации в режиме: 94 °С — 1 мин- денатурация; 62 °С — 1 мин — отжиг праймеров; 72 °С — 1,5 мин — синтез. Элонгация 5 мин при 72 °С.

Продукт амплификации длиной 883 пн представляет фрагмент четвертого экзона гена каппа-казеина и включает сайты узнавания рестриктаз, специфичные для А и В аллельных вариантов, которые отличаются аминокислотным составом в двух положениях первичной структуры белка — 136 и 148. Эти замены являются результатом точковых мутаций в гене каппа-казеина и могут быть распознаны с помощью рестриктазы PstI.

Вариант А содержит два сайта узнавания рестриктазой и в результате реакции расщепления ферментом распадается на 3 фрагмента (106, 306, 471 п. н.). Аллель В содержит один сайт узнавания рестриктазой и для него продуктами рестрикции являются 2 фрагмента (106, 777 п. н.) (табл. 1).

Таблица 1

Схема определения генотипа крупного рогатого скота по гену каппа-казеина (CSN3) после гидролиза амплификата эндонуклеазой PstI по длине рестрикционных фрагментов

Генотип по гену CSN3	Длина фрагментов (пн)
CSN3 ^{AA}	106; 306; 471
CSN3 ^{AB}	106; 306; 471; 777
CSN3 ^{BB}	106, 777

Результаты и обсуждение

Как показал анализ генетической структуры популяций крупного рогатого скота среди коров хозяйства «Красная звезда» не выявлено предпочтительного генотипа ВВ-гена каппа-казеина, а в хозяйстве «Сычи» частота генотипа ВВ составляет 2,9% достаточно низкая (табл. 2).

Таблица 2

Генетическая структура популяций крупного рогатого скота по гену каппа-казеина

п животных	Хозяйство	Частота генотипов, %			Частота аллелей	
		AA	AB	BB	A	B
42	Красная звезда	81	19	0	0,91±0,04	0,09±0,04
207	Сычи	69,6	27,5	2,9	0,83±0,03	0,17±0,03

Нами был проведен анализ связи предпочтительного В-аллельного варианта гена каппа-казеина с такими признаками молочной продуктивности. Как общий удой и белкомолочность. Установлено, что наиболее высокий общий удой за 305 суток лактации наблюдается — у коров с генотипом ВВ и достигал 11100 кг (рис. 1).

Также нами отмечено, что коровы с генотипом ВВ характеризуются наибольшей общей продуктивностью молочного белка (кг) за 305 суток лактации — до 350 кг соответственно (рис. 2).

У коров с генотипами АА и АВ значения показателей и общей продуктивности молочного белка удоя за 305 суток лактации практически одина-

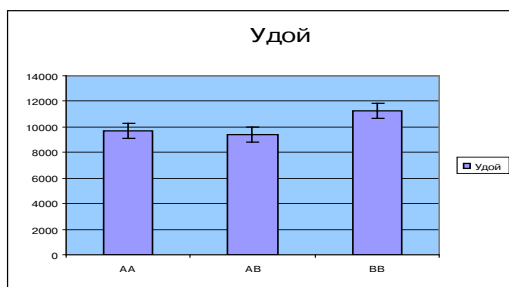


Рис. 1. Удой за 305 суток лактации (кг), у коров белорусской черно-пестрой породы с разными генотипами по гену каппа-казеина

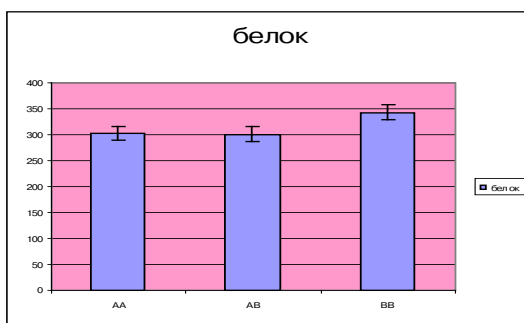


Рис. 2. Общая продуктивность молочного белка за 305 суток лактации (кг), у коров белорусской черно-пестрой породы с разными генотипами по гену каппа-казеина

ковы. Полученные нами данные согласуются с результатами других исследований [2–3, 5–6].

Заключение. Нами выявлены животные обладающие предпочтительным генотипом BB по гену каппа-казеина. Установлено, что аллельные варианты BB-каппа-казеина имеют наибольший общий удой и общую продуктивность молочного белка за 305 суток лактации, (кг). Полученные данные позволят осуществлять отбор животных с предпочтительными генотипами для селекции крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы направленной на повышение содержания белка в молоке и улучшение его технологических свойств.

Литература

1. Стрекозов Н.И., Сивкин Н.В., Иолычев Б.С. Белковый состав молока и биохимический полиморфизм его фракций // Весник РАСХН. — 1996. № 1. — С. 52–53.
2. Gravert H. O. Genomananalyse und Milchqualität // Schriftenr. D. Agrarwiss. Fakultät der Univ. Kiel. — 1990. — B. 72. — S. 147–154.

3. *Калашиникова Л. А., Дунин И. М., Глазко В. И.* Селекция XXI века: использование ДНК-технологий. — 2-е изд. испр. И доп. Московская область, Лесные поляны, ВНИИплем. 2001. — 34 с.

4. *Русак Л. В.* Спелизация молочного скота — путь интенсификации отрасли // Белорусское сельское хозяйство. — № 8 (40). — 2005. — С. 3–6.

5. *Ng-Kwai Hang.* Genetic variants of milk proteins and cheese yield // IDF Seminar Cheese yield and factors affecting its control. Corc. 1–1993. P. 160–166.

6. *Bosze Z., Dohy Y.* Improvement of the quality of milk protein by new biotechnological methods // Hungarian Agricultural Research. — 1993. — Vol.2. No.1. — P. 26–29.

Резюме

Исследована ассоциация полиморфных вариантов гена **CSN3** с признаками молочной продуктивности у крупного рогатого скота черно-пестрой породы белорусского разведения. Выявлены генотипы оказывающие повышающий эффект на такие признаки молочной продуктивности за 305 суток лактации, как общий удой и белково-молочность.

The association of polymorphic variants of the gene **CSN3** with milk productivity traits was studied in black-and-white cattle of Belarusian breeding. The genotypes exerting an increasing effect on such traits of milk productivity over 305 days of lactation as the total milk yield and protein content in milk were detected.

ПОЛЬСЬКА П. І., КАЛАЩУК Г. П.

*Інститут тваринництва степових районів імені М. Ф. Іванова «Асканія-Нова» — Національний науковий селекційно-генетичний центр з вівчарства
Україна, 75230. смт. Асканія-Нова, вул. Червоноармійська 1. Чаплінський р-он,
Херсонська обл., (05538) тел.-факс 6–16–55; e-mail: asknov@mail.ru*

МЕТОДОЛОГІЯ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІПШЕННЯ АСКАНІЙСЬКОЇ М'ЯСО-ВОВНОВОЇ ПОРОДИ ОВЕЦЬ З КРОСБРЕДНОЮ ВОВНОЮ

Наявність і широке використання в різних регіонах України виведених в ДГ ІТ «Асканія-Нова» і апробованих асканійських кросбредів (а. с. № 5239, 1990 р.) та асканійського типу чорноголових овець (а. с. № 1168, 1995 р.), які відзначаються високими показниками відтворювальної і адаптивної здатності, скороспілості, рекордної універсальної продуктивності: м'ясної, молочної і вовнової, дозволило без валютних витрат створити першу вітчизняну асканійську м'ясо-вовнову породу овець з кросбредною вовною із п'ятьма внутрішньопородними типами, яку апробовано у 2000 році і затверджено наказом Мінагрополітики України та Української академії аграрних наук № 315/37 від 8.05.2007 р. [1].

З метою збереження, ефективного використання і подальшого розвитку адаптованих генетичних ресурсів новоствореної породи необхідно забезпечити її безперервний селекційний прогрес з урахуванням можливих змін попиту в майбутньому та ролі політики і національної стратегії Держави. Тому подальша розробка методології щодо створення в нечисленних

закритих популяціях інтенсивних типів овець племзаводу «Асканія-Нова» видатних генотипів і максимальне використання їх для генетичного поліпшення асканійської м'ясо-вовнової породи з кросбредною вовною заслугоує на особливу увагу.

Матеріал і методи

Інтенсивні типи овець — асканійські кросбреди і асканійські чорноголові ДГ ІТ «Асканія-Нова» використані в 1976–2000 рр. в якості поліпшуючого генофонду для промислового і поглинального схрещування з тонкорунними і цигайськими вівцематками в різних регіонах України з метою інтенсифікації галузі і створення племінної бази нового м'ясо-вовнового напрямку вівчарства — кросбредного [2, 3]. Визначення племінної цінності баранів-плідників інтенсивних типів проведено, задовго до їх апробації, шляхом багаторазового виробничого випробування в господарствах 18 областей України. В 1987 році їх спермою було осіменено 184 тис. вівцематок. Селекційна робота з інтенсивними типами овець протягом останніх 36 років (1976–2011 рр.) проводиться за принципом нечисленних закритих популяцій ($n=328-1065$) без залучення генофонду інших регіонів і країн.

Удосконалення барановідтворювального ядра асканійських м'ясо-вовнових овець проводиться при чистопородному розведенні методом поглибленої селекції із застосуванням (в сприятливих умовах годівлі) інбридингу, який забезпечує гетерогенність і ефективність синтетичної селекції [4, 5]. Генеалогічна структура новоствореної породи базується на сформованій генеалогії внутрішньопородних інтенсивних типів — асканійських кросбредів і асканійських чорноголових племзаводу «Асканія-Нова».

Рівень годівлі овець барановідтворювального стада в розрізі статевих та вікових груп визначено шляхом щоденного обліку заданих кормів із урахуванням їх якості.

В результаті спрямованого вирощування молодняку і щорічно проведених науково-виробничих дослідів з метою визначення забезпеченості овець кормами, розроблено норми годівлі тварин усіх статевих і вікових груп, залежно від їх продуктивності [2]. Слід зазначити, що створення і вдосконалення інтенсивних типів овець відбувалося за умов нестабільного рівня годівлі.

За 46-річний період селекції в ДГ «Асканія-Нова» частка років з оптимальним і сприятливим рівнем годівлі овець становила лише 34,9%, або 16 років, недостатнім, низьким і гранично низьким — 21,7%, або 10 років. Розведення інтенсивних типів овець за екстремальних умов годівлі (24,5–47% до норми) було на протязі 10 років, частка яких становила 21,7%.

Отже, за останнє 16-річчя, внаслідок складних економічних, природно-кліматичних і інших факторів, періодичні несприятливі умови годівлі і утримання овець інтенсивних типів змінилися на екстремальні.

Щорічне визначення забезпеченості кормами овець селекційного ядра племзаводу «Асканія-Нова» за показниками заданих кормів дало змогу до-

слідити адаптивну і реабілітаційну здатність інтенсивних типів овець новоствореної породи.

Результати та обговорення

Розроблено методологію створення в нечисленних закритих популяціях видатних адаптованих генотипів асканійських кросбредів і асканійських чорноголових, які за принципово новим поєднанням основних селекційних ознак не мають аналогів у практиці світового вівчарства, вони є вершиною селекційної піраміди новоствореної асканійської м'ясо-вовнової породи і забезпечують її якісний прогрес (схема). Максимальний генетичний потенціал м'ясної продуктивності становить 160–192 кг м'яса у живій масі на вівцематку при відтворенні і вирощуванні трійневих ягнят до 9–10-місячного віку при середніх показниках — 80–85 кг і середньому настризі чистої вовни 5,0–5,6 кг на голову.

Методологічні засади формування селекційного капіталу по створенню видатних генотипів базуються на розробленому нами методі безперервної поглибленої селекції, який включає: щорічне визначення результатів взаємодії «геноти-середовище», оптимізацію генеалогічної структури (не менше 3 ліній і 12 споріднених груп), багатоступінчатий відбір (при народженні ягнят, в 4, 8–9, 13–14 — місячному віці) та щорічний коригуючий відбір баранів і вівцематок (перед стриженням та осіменінням), а також щорічний спеціальний підбір пар (повторення вдалих поєднань та створен-

Селекційна піраміда асканійської м'ясо-вовнової породи овець з кросбредною вовною

Категорію племінного заводу визначають на основі накопиченого селекційного капіталу, а саме:

- F (покоління), ступінь генетичної різноманітності;
- репродуктивні якості, технологічність;
- рівень м'ясної, молочної і вовнової продуктивності;
- племінна цінність.



* Асканійських кросбредів і асканійських чорноголових використано в різних регіонах України в якості поліпшувачого генофонду для виведення новоствореної породи. Їх плодючість 145-150%, генетичний потенціал виробничий м'яса на вівцематку 80-85кг (макс. 192кг) при настризі чистої кросбредної вовни 5,0-5,6кг, високий адаптивний і реабілітаційний здатності, продуктивному довголіттю і видатній племінній цінності.

ня генотипів з рекордною продуктивністю), внутрішньогруповий, міжгруповий і міжплінний (при використанні не менше трьох баранів-плідників по кожній спорідненій групі), який здійснюється методом штучного осіменіння при науковому супроводі [6]. Успішне створення видатних генотипів можливе лише за умов достатнього рівня годівлі згідно з розробленими нами нормами із розрахунку 8 ц к.од. і вмістом 108–115 г перетравного протеїну в 1 к.од. на структурну вівцю в рік при співвідношенні в раціоні в осінньо-зимовий період протеїну і цукру 1:1.

При щорічному визначенні загальної селекційної оцінки генотипів за несприятливих і екстремальних умов годівлі ураховуються результати взаємодії «генотип-середовище», згідно з розробленими селекційними параметрами для відбору і підбору особин бажаного типу, а саме: на кожний відсоток зниження або підвищення поживності річного раціону тварин усіх статево-вікових груп адекватно змінюються показники живої маси на 0,9–1,3 %, настригу чистої вовни — 1,0–2,0 %, довжини вовни — на 0,3–0,9 %.

Генетичний потенціал продуктивності інтенсивних типів овець племзаводу «Асканія-Нова» за умов низького рівня годівлі реалізується за живою масою лише на 46,4–60,5 %, настригом чистої вовни — на 33,0–59,5 %, тоді як за довжиною вовни — на 76,4–85 %.

Півсторічний наш досвід щодо породотворення і всебічний аналіз накопичених експериментальних даних по виведенню, вдосконаленню і використанню інтенсивних типів овець в племзаводі «Асканія-Нова» свідчить, що творчою цілеспрямованою селекцією необхідно займатися безперервно, незважаючи на рівень годівлі тварин, навіть за умов негативної взаємодії «генотип-середовище».

Отримані за умов критично низького рівня годівлі дані відтворювальної здатності та комбінованої продуктивності асканійських кросбредів і асканійських чорноголових характеризують їх як видатних тварин. Так, при забезпеченні вівцематок кормами на 38,0–54,4 % до норми показники яловості становили лише 1,6–5,1 %, а настригу чистої вовни перевищували вимоги до елітних тварин на 0,28–1,15 кг, або на 10–46 % і коливалися в межах 3,18–3,81 кг.

Видатні генотипи відзначаються міцною конституцією, спокійним темпераментом, високою технологічністю (барани комолі, у маток добре виражений материнський інстинкт і достатньо молока для вигодовування 3–4 ягнят), статевою скороспілістю, а також продуктивним довголіттям зі стійкою передачею потомству притаманних спадкових властивостей, що забезпечує високу ефективність їх використання у різних регіонах України при високій стійкості до захворювання копитною гнилизною в умовах вологого клімату.

Розроблена та апробована методологія створення видатних генотипів асканійських кросбредів і асканійських чорноголових племзаводу «Асканія-Нова» забезпечила високу адаптивну і реабілітаційну здатність

тварин з рекордними показниками генетичного потенціалу комбінованої продуктивності — м'ясної, молочної та вовнової, що обумовило на сучасному ринку племінних ресурсів великий на них попит різних агроформувань 10 областей України та АР Крим з метою розведення овець м'ясо-молочно-вовнового напрямку продуктивності.

Широке використання в різних регіонах асканійських кросбредів і асканійських чорноголових овець дозволяє не тільки відновити галузь вівчарства в Україні на новій якійсній основі без імпорту м'ясних порід і типів, а й сформувати експортний потенціал вітчизняних племінних ресурсів світового рівня, заощадити валютні кошти та запобігти ввезенню збудників небезпечних генетичних захворювань [7].

На сьогодні, в умовах поглиблення економічної кризи, термінове позитивне вирішення нагальної проблеми щодо збереження накопиченого національного селекційного капіталу з вівчарства світового рівня в племзаводі «Асканія-Нова» заслуговує на увагу як діючого Президента, так і Уряду України та Верховної Ради.

Багаторічний наш досвід породоутворення свідчить, що збереження адаптованого вітчизняного генофонду з вівчарства можливе лише за умов прийняття державних рішень щодо розв'язання нагальних питань з цієї проблеми, особливо це стосується запитання: «Хто власник видатних генетичних ресурсів?». Якщо Держава, то це гарантія їх збереження при постійному контролі і обов'язковому науковому супроводі з метою забезпечення їх селекційного прогресу.

Висновки

Генофондове стадо внутрішньопородних інтенсивних типів овець племазаводу «Асканія-Нова» з високою генетичною різноманітністю (8 ліній та 26 споріднених груп) і досягнутим селекційним плато рекордної комбінованої продуктивності: м'ясної, молочної і вовнової при відмінних репродуктивних якостях і особливо високій племінній цінності — генеруюча генетична основа асканійської м'ясо-вовнової породи овець з кросбредною вовною, що забезпечує її якісний прогрес та уникнення інбредної депресії.

Література

1. *Польская П. И.* Методология выведения асканийской мясо-шерстной породы овец с кроссбредной шерстью / П. И. Польская // Фактори експериментальної еволюції організмів. Збірник наукових праць Т. 5. — Київ. Логос. — 2008. — С. 136–141.
2. *Польская П. И.* Качественное преобразование овцеводства / П. И. Польская // Преобразование генофонда пород. — Киев. Урожай. — 1990. — С. 241–263.
3. *Польская П. И.* Использование селекционных достижений в овцеводстве для формирования конкурентоспособной отрасли Украины / П. И. Польская // Вівчарство Міжвид. темат. наук. зб. вип. 30. — Київ. Аграрна наука. — 1998. — С. 32–39.
4. *Польская П. И.* Методы выведения, совершенствования и использования асканийских мясо-шерстных овец: Дис. на соиск. учен. степени д-ра с.-х. наук: спец. 06.02.01/П. И. Польская // Асканія-Нова, 1990. — 383 с.

5. Калащук Г. П. Удосконалення асканійських м'ясо-вовнових овець методом поглибленої селекції: Дис. на здоб. наук. ступеня канд. с.-г. наук: спец. 06.02.01 «Розведення та селекція тварин» / Г. П. Калащук // Херсон. — 2000. — 225 с.

6. Польська П. І., Калащук Г. П. Основні складові системи селекції асканійської м'ясо-вовнової породи овець з кросбредною вовною/П. І. Польська, Г. П. Калащук//Вівчарство: міжвід. темат. наук. зб. Нова Каховка: — 2011. — вип.. 36. — С. 49–54.

7. Рудик І. А. Розповсюдження генетичної мутації BLAD у популяції молочної худоби / І. А. Рудик, Т. М. Димань, А. П. Загородній, В. В. Дзицюк // Вісник аграрної науки. — 2006. — № 11. — С. 53–55.

Резюме

Изложены методические приемы генетического улучшения асканийской мясошерстной породы овец путем создания в генофондном стаде ИЖ «Аскания-Нова» в малочисленных закрытых популяциях с высоким генетическим разнообразием выдающихся генотипов и использования их в племенных заводах и племпрепродукторах.

Викладено методичні прийоми генетичного поліпшення асканійської м'ясо-вовнової породи овець шляхом створення у генофондовому стаді ІТ «Асканія-Нова» в нечисленних закритих популяціях з високою генетичною різноманітністю видатних генотипів і використання їх в суб'єктах племінної справи.

The methodical receptions of genetic improvement of Ascanian Meat-Wool breed of sheep are expounded by creation in the gene pool herd of Institute of Animal Breeding «Ascania-Nova» in not numerous closed populations with the high genetic variety of prominent genotypes and use them in the subjects of pedigree business.

САМЧУК В. А.¹, СТЕКЛЕНЬОВ Є. П.²

¹ Луганський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна, 91011, Луганськ, вул. Оборонна, 2, e-mail: anatomic@mail.dsip.net.

² Біосферний заповідник «Асканія-Нова», Україна, 75230, смт. Асканія-Нова, Херсонська обл.

МІНЛИВІСТЬ МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИЧУГА У ГІБРИДІВ В ПІДРОДИНІ BOVINAЕ

У дослідях по гібридизації дикої форми бантенга з домашньою коровою в Асканії-Нова було отримано близько 400 особин гібридів першого й четвертого поколінь, досліджено їх розвиток, біологічні та господарські корисні ознаки. Встановлено, що бантенгові гібриди першого покоління добре розвинуті. У них чітко проявляється гетерозис як в пре- так і в постнатальний період. Розвиток гібридів другого й третього поколінь залежить від батьківських пар; при схрещуванні гібридних самок з самцями домашньої корови гетерозис зберігається, а при схрещуванні з самцями бантенга — зникає. Якісні показники м'ясної та молочної продуктивності гібридів першого покоління значно переважали показники тварин червоної степової породи. Нажаль, розведенню гібридів «у собі» заважає неплідність гібрид-

них самців. Схожа картина спостерігається й при гібридизації бізонів з домашньою коровою. Аналіз внутрішньовидових, міжвидових й більш віддалених схрещувань показує, що при використанні гібридів перших двох варіантів схрещувань були отримані нові високопродуктивні й одночасно невибагливі до умов утримання гібридні форми, породи й породні групи сільськогосподарських тварин [1]. Крім того, гібридизація це один із факторів мінливості рослинних і тваринних організмів й має певне значення як метод наукового дослідження процесів еволюції, видоутворення, спадковості. При проведенні порівняльної характеристики між дикими тваринами, їхніми домашніми родичами та гібридами можна з'ясувати унікальні властивості, які мають дикі тварини, втрати й надбання внаслідок доместикації їх домашніх родичів та гібридів. На розвиток тварин та їх продуктивність значною мірою впливають умови утримання та якість харчування.

Відомо, що спеціалізоване харчування, яке властиве жуйним відрізняється своїми можливостями до засвоєння їжі. У жуйних сформувався тип травлення, при якому процеси засвоєння грубих кормів здійснюються, переважно, в складному шлунку, а в домашніх тварин зростає роль сичуга й тонкої кишки [2]. Складний шлунок жуйних має спільні макро- і мікроморфологічні ознаки, що не виключає й міжвидових та індивідуальних відмінностей. Дикі жуйні краще засвоюють низькоякісний рослинний корм й зберігають масу тіла та життєздатність у несприятливих умовах або у зв'язку із сезонними змінами [3]. Шлунок-кишковий тракт жуйних формується під значним впливом якості і складу кормів під час переходу з молока на рослинну їжу, проте визначальну роль відіграють генетичні механізми онтогенезу.

Порівняльний аналіз кількісних і якісних показників будови передшлунків бантенгів, бізонів, домашньої корови та їх гібридів виявив видові відмінності та вплив поєднання геномів різних видів биків на варіювання макро- і мікроморфологічних показників їх передшлунків [4]. Результати досліджень епітелію сичуга бантенга й червоної степової породи та їх гібридів виявили тенденцію до більшої схожості залозистого епітелію сичуга бантенгових гібридів F_1 і F_b з $\frac{3}{4}$ бантенга з епітелієм сичуга бантенга, а F_b з $\frac{3}{4}$ червоної степової — з домашньою коровою [5]. Сичуг безпосередньо контактує з їжею й бере участь в процесах травлення, тому можна зазначити, що вивчення особливостей його розвитку і будови у різних видів та гібридних форм сприятиме кращому розумінню процесів травлення, адаптації у жуйних.

Метою цієї роботи є дослідження мінливості морфометричних показників розвитку сичуга у бантенгових й бізонячих гібридів з домашньою коровою різних поколінь.

Матеріали і методи

У дослідях були використані шлунки 42 гібридів бантенга, бізона і домашньої корови. Тварини знаходились в умовах напіввільного утримання

в Асканії-Нова. Гібриди вирощувались на ручному вигодовуванні незбираним материнським молоком. З місячного віку тварин підкармлювали сіном і концентратами. Абсолютну масу шлунка і його відділів визначали шляхом зважування, попередньо звільнивши їх від хімусу й жиру. За абсолютними даними визначали індекси відносного розвитку сичуга: забезпеченість маси тіла масою сичуга у проміле (‰) від загальної маси тіла; маси сичуга у відсотках (%) від загальної маси шлунка; відношення маси передшлунків до маси сичуга. Для статистичного аналізу використовували непараметричні методи.

Результати та обговорення

За результатами порівняльного аналізу морфометричних показників сичуга встановлено, що забезпеченість маси тіла масою сичуга була найменшою у дорослих бантенгових і бізонячих гібридів F_1 , отриманих у схрещуваннях із сірою українською породою, а при схрещуванні з червоною степовою — показники виявилися більшими (див. табл. 1). У подальших поколіннях гібридів, при зростанні долі крові бантенга, зберігається така ж тенденція порівняно з гібридами з більшою долею крові домашньої корови червоної степової породи. Гібриди, отримані при схрещуванні бантенгів і бізонів з сірою українською породою мали найменшу забезпеченість тіла масою сичуга.

Маса сичуга у відсотках від загальної маси шлунка виявилась більшою у дорослих бантенгових гібридів з червоною степовою породою як у першому так, здебільшого, і в наступних поколіннях, а у гібридів домашньої корови з бізонами цей показник менше, що вказує на видові й породні відмінності ролі передшлунків й сичуга в травленні жуйних.

Співвідношення маси передшлунків і сичуга також характеризує особливості морфо функціонального забезпечення травлення у шлунку жуйних. Цей показник був більшим у гібридів $\frac{1}{2}$ бізона $\times$ $\frac{1}{2}$ сірої української та $\frac{1}{2}$ бізона $\times \frac{3}{16}$ бантенга $\times \frac{5}{16}$ червоної степової породи порівняно з іншими дослідженими гібридами.

Слід відзначити, що така тенденція спостерігалась у дорослих тварин. У новонароджених гібридів забезпеченість маси тіла масою сичуга була найбільшою, а його відносна маса у складі шлунка в декілька разів перевищувала відповідні показники у дорослих гібридів. Це та показник співвідношення передшлунків і сичуга вказують на визначальну роль сичуга в травленні в перинатальний період та на значний перерозподіл процесів травлення у тварин в подальшому, особливо під впливом переходу на рослинну їжу.

Висновки

Таким чином, гібриди дикого бантенга, бізона і домашньої корови мають значну мінливість маси шлунка й сичуга як в абсолютних, так і відносних показниках. Відносний розвиток сичуга й забезпеченість його масою маси тіла у досліджених тварин мали значні відмінності в онтогенезі

Таблиця 1

Морфометричні показники сичуга: забезпеченість маси тіла масою сичуга у проміле (%) від загальної маси тіла; маси сичуга у відсотках (%) від загальної маси шлунка; відношення маси передшлунків до маси сичуга

№	Гібрид n	%	%	Співвідношення передшлунків і сичуга
1	$\frac{1}{2}$ бантенга $\times$ $\frac{1}{2}$ червоної степової n = 9	3,4	11,2	8,0:1
2	$\frac{1}{2}$ бантенга $\times$ $\frac{1}{2}$ сірої української n = 3	1,9	9,4	9,7:1
3	$\frac{1}{2}$ бізона $\times$ $\frac{1}{2}$ сірої української n = 4	2,3	7,3	13,5:1
4	$\frac{3}{4}$ червоної степової $\times$ $\frac{1}{4}$ бантенга n = 9	3,4	10,4	8,6:1
5	$\frac{3}{4}$ бантенга $\times$ $\frac{1}{4}$ червоної степової n = 3	2,9	9,7	9,3:1
6	$\frac{3}{8}$ бантенга $\times$ $\frac{5}{8}$ червоної степової n = 1	2,6	10,3	8,7:1
7	$\frac{5}{8}$ червоної степової $\times$ $\frac{3}{8}$ бантенга n = 1	4,1	11,9	7,4:1
8	$\frac{7}{8}$ бантенга $\times$ $\frac{1}{8}$ червоної степової n = 1	2,5	9,2	9,8:1
9	$\frac{7}{8}$ червоної степової $\times$ $\frac{1}{8}$ бантенга n = 1	3,9	15,5	5,4:1
10	$\frac{1}{8}$ бантенга $\times$ $\frac{7}{8}$ червоної степової (мертвонароджений) n = 1	6,5	60,0	0,7:1
11	$\frac{1}{2}$ бантенга $\times$ $\frac{1}{4}$ сірої української $\times$ $\frac{1}{4}$ червоної степової n = 1	2,9	9,8	9,2:1
12	$\frac{3}{8}$ бантенга $\times$ $\frac{3}{8}$ червоної степової $\times$ $\frac{2}{8}$ сірої української n = 2	2,7	9,0	10,6:1
13	$\frac{3}{8}$ червоної степової $\times$ $\frac{3}{8}$ бантенга $\times$ $\frac{2}{8}$ сірої української n = 2	3,9	10,0	8,4:1
14	$\frac{2}{8}$ бантенга $\times$ $\frac{5}{8}$ червоної степової $\times$ $\frac{1}{8}$ сірої української n = 1	2,9	10,4	8,6:1
15	$\frac{1}{2}$ бізона $\times$ $\frac{1}{4}$ бантенга $\times$ $\frac{1}{4}$ сірої української n = 1	2,4	8,8	10,3:1
16	$\frac{1}{2}$ бізона $\times$ $\frac{1}{4}$ бантенга $\times$ $\frac{1}{4}$ сірої української (новонароджений) n = 1	4,8	48,9	1,0:1
17	$\frac{1}{2}$ бізона $\times$ $\frac{3}{16}$ бантенга $\times$ $\frac{5}{16}$ червоної степової n = 1	2,5	8,0	11,4:1

тварин та в залежності від варіанту схрещування. Така варіабельність, напевно, забезпечує морфофункціональну мінливість травлення в сичугі гібридних тварин, успішність їх взаємодії із зовнішніми факторами, й перш за все, з їжею, а значить успіх в адаптації травлення до різноякісних кормів та успішному пристосуванню тварин до сезонних змін або нових умов існування.

Література

1. *Стегленев Е. П.* Отдаленная гибридизация животных. — Киев. — 2001. — 232 с.
2. *Давлетова Л. В.* Эволюция органов пищеварения жвачных животных // С.-х. биология. — 1976. — Т. 31. — С. 44–49.
3. *Hofman R. R.* Comparative anatomical studies imply adaptive variations of ruminant digestive physiology / R. R. Hofman // Canad. J. Anim. Sc. — 1984. — Vol. 64, suppl. — P. 203–205.
4. *Самчук В. А., Стегленев Е. П.* Мінливість будови передшлунків биків в умовах гібридизації та акліматизації // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр. — К.: Логос, 2007. — С. 300–304.
5. *Самчук В. А., Стегленев Е. П.* Особливості епітелію сичуга при гібридизації домашньої корови з бантенгом // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. — К.: Логос, 2011. — С. 309–312.

Резюме

Изучены особенности морфометрических показателей сычуга у гибридов бантенга, бизона и домашней коровы. Результаты исследований указывают на влияние гибридизации на развитие сычуга и его зависимость от вариантов скрещивания животных.

Вивчені особливості морфометричних показників сичуга у гібридів бантенга, бізона й домашньої корови. Результати досліджень вказують на вплив гібридизації на розвиток сичуга та його залежність від варіантів схрещувань тварин.

The morphometric characteristics of the abomasum in hybrids of Bison, wild Banteng and domestic cow have been studied. The results obtained testify to the fact that the hybridization influences upon the morphometric characteristics of the abomasum as the dependence of it's features upon variant of reverse crossing.

СЫРОВНЕВ Г. И., КУНЕВА Л. В., СМЕТАНИН В. Т.

*Днепропетровский государственный аграрный университет
Украина, 49600, Днепропетровск, ул. Ворошилова, 25
e-mail: smetanin52@yandex.ua*

ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ И СОХРАННОСТИ ПРОРОСЯТ В ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИНБРЕДНЫХ ХРЯКОВ СЕЛЕКЦИИ ДНЕПРОПЕТРОВСКОГО СХИ

Селекционный процесс предполагает не только постоянную оценку и отбор различными методами лучших, с точки зрения селекционера, особей, но и их системное использование в различных схемах скрещивания.

Должное внимание при этом следует уделять отечественным локальным породам, которые являются носителями генных комплексов сформированных под воздействием конкретной среды обитания. И, тем самым, обеспечивающим оптимальные нормы реакции, устойчивости и сохранения генетических особенностей отсутствующих у, так называемых, «коммерческих пород», активно и повсеместно внедряемых в национальные системы разведения [1].

В Днепропетровской области на протяжении нескольких десятилетий проводятся генетико-популяционные исследования и совершенствование стада свиней селекции ДСХИ (Днепропетровского сельскохозяйственного института, ныне агроуниверситета), с использованием традиционных зоотехнических и современных молекулярно-генетических методов. Эти животные относятся к самостоятельному генеалогическому типу украинской мясной породы и разводятся с 1965 по закрытому типу — «в себе» [2]. В настоящее время племенным репродуктором поголовья этого типа является ООО «Луговское», Солонянского района, которое также является и племенным репродуктором свиней крупной белой породы.

Для наилучшего раскрытия генетического потенциала разводимых пород и воплощения теоретических представлений генетики предложена локальная система разведения, обеспечивающая гетерозисные эффекты генетически дифференцированных животных украинской мясной и крупной белой пород [3, 4]. При работе со свиньями селекции ДСХИ в последние 5–7 лет на их основе ведется формирование высокоинбредной линии, представителем которой также необходимо оценить в системе скрещивания.

Целью исследований является сравнительная оценка многоплодия свиноматок, жизнеспособности, скорости роста и причин отхода молодняка на подсосе, полученного по различным схемам, в постнатальный период.

Методика исследований

При выполнении исследований использовали традиционные зоотехнические методы изучения селекционного материала [5], которые были модифицированы в части возраста индивидуальной оценки массы и сохранности подсосных поросят, что вызвано необходимостью выявления у них клинических признаков колиинфекции и восприимчивости к ней.

Для реализации поставленной цели была составлена схема скрещивания (табл. 1), в соответствии с ней было проведено осеменение свиноматок, у которых после опороса фиксировался уровень развития изучаемых признаков.

В качестве контрольной группы использовались свиньи крупной белой породы при чистопородном разведении. Свиноматки, отобранные в опыт, имели одинаковый возраст — 2 опороса, соответствовали требованиям класса элита, согласно действующей инструкции по бонитировке свиней [5], были хорошо развиты и находились в нормальном физиологическом состоянии. Условия содержания и кормления во время осеменения, супороснос-

ти и подсосного периода животных всех схем скрещивания были идентичны. Обработку экспериментальных результатов исследований проводили статистически с помощью программы Statistica 17.0.

Таблица 1

Схема скрещивания

Группа животных	Назначение группы	Порода и породность		Количество, голов		Изучались
		свиноматок	хряков	свиноматок	хряков	
I	контрольная	КБ	КБ	8	2	Многоплодие маток, крупноплодие поросят, масса 1 головы на 5, 10, 21 сутки, сохранность поросят и причины отхода на 5, 10, 21 сутки
II	опытная	УМ	УМ	7	2	
III	опытная	КБ	УМИ	8	2	

Примечания: КБ — крупная белая порода свиней; УМ — украинская мясная порода (аутбредная линия); УМИ — украинская мясная порода (инбредная линия).

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования показали, что многоплодие чистопородных маток крупной белой как при чистопородном разведении, так и при скрещивании их с инбредными хряками украинской мясной породы находится на достаточно высоком и одинаковом уровне. Свиноматки украинской мясной породы не уступали им по этому признаку. Следует отметить более высокую изменчивость многоплодия у крупных белых свиней при осеменении их инбредными хряками, что вызвано повышением уровня признака и стопроцентным количеством живых поросят при рождении при данной схеме разведения (табл. 2).

Таблица 2

Многоплодие маток и сохранность поросят в постнатальный период

Группа животных	Многоплодие					5 день		10 день		21 день	
	всего, голов	C_V^0 , %	lim, min-max	живых, %	$C_{V'}^ж$, %		C_V^5 , %		C_V^{10} , %		C_V^{21} , %
I	11,6±0,32	7,88	11–12	97,9±1,36	3,94	94,39±1,65	4,95	85,73±2,34	7,71	79,08±1,57	5,60
II	11,3±0,18	4,32	11–12	96,1±2,71	7,44	88,64±2,5	6,37	85,73±1,52	4,69	81,81±2,52	8,16
III	11,4±0,82	20,45	9–15	100	—	97,23±1,36	3,95	94,45±1,72	5,14	90,64±2,22	6,91

В опытной группе зафиксирована более высокая сохранность поросят на протяжении всего учетного периода до 21 дня, когда наиболее активно идет усвоение молока свиноматки. К этому возрасту сохранность поросят

в III группе была на 9,2–11,5 % выше в сравнении с группами II и I. За время проведенного опыта также посуточно подсчитывался падеж поросят и его причины. Так, из всех умерших животных 26 % имели клинические признаки респираторных заболеваний, а 44 % — признаки кишечной инфекции.

Несмотря на наличие, более многоплодных гнезд, полученных по схеме скрещивания КБ х УМИ, крупноплодие, родившихся поросят в опытной группе, не уступало, полученному при чистопородном разведении свиней украинской мясной и крупной белой пород (табл. 3, рис. 1).

Таблица 3

Масса поросят в постнатальный период

Группа	N, голов	Крупноплодие		5 день		10 день		21 день	
		кг	C_{V}^0 , %	кг	C_{V}^5 , %	кг	C_{V}^{10} , %	кг	C_{V}^{21} , %
I	91	1,06±0,02	19,67	1,98±0,05	22,87	2,79±0,09	28,05	4,39±0,1	18,59
II	79	1,08±0,02	19,98	2,00±0,05	22,95	2,86±0,09	27,60	4,46±0,1	18,18
III	93	1,12±0,02	17,40	2,61±0,05***	24,92	4,27±0,09**	19,34	7,41±0,23*	28,78

Примечания: *** — $P>0,95$; ** — $P>0,99$; * — $P>0,999$.

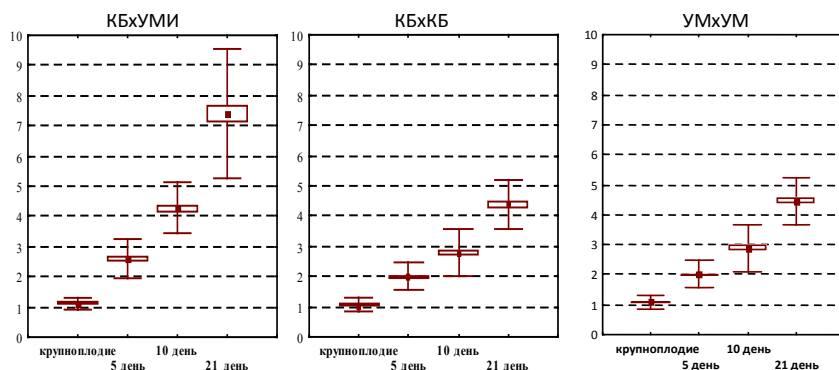


Рис. 1. Диаграммы изменения массы поросят до 21 дня

■ — среднее (M); □ — среднее±стандартная ошибка ($M\pm m$);

┘ — среднее±стандартное отклонение ($M\pm s$)

В группе III поросята при рождении имели массу на 3,7 % больше, чем в группе II, и на 5,6 %, чем чистопородные животные группы I. В возрасте 5 дней помесные поросята на 0,61–0,63 кг превышали массу чистопородных обеих сравниваемых групп, при достоверности $P>0,95$. На 10 день различия между поросятами, полученными по схеме КБ х УМИ и крупными белыми увеличились до 1,41 кг, а украинскими мясными на 1,48 кг

($P > 0,99$). К возрасту в 21 день разница в живой массе животными группы III в сравнении с группами II и I составила 66,1 % и 68,8 % соответственно, при высокой степени достоверности ($P > 0,999$).

На рис. 1 хорошо видна разница в динамике набора массы подсосными поросятами между чистопородными животными обеих изучаемых пород и полученными от скрещивания крупных белых свиноматок с инбредными хряками.

Выводы

В результате проведенных исследований установлено:

— многоплодие чистопородных свиноматок украинской мясной и крупной белой пород находится на высоком уровне и не отличается от полученного при осеменении последних инбредными хряками украинской мясной породы;

— использование инбредных хряков, полученных на основе украинской мясной породы внутривидового типа селекции ДСХИ, для скрещивания с матками крупной белой породы достоверно увеличило сохранность и массу помесных подсосных поросят. К возрасту 21 день они на 66,1–68,8 % превышали массу чистопородных животных.

Литература

1. Прохоренко П. Н., Паронян И. А. Состояние генетических ресурсов домашних животных в мире и концепция их сохранения // Селекционно-генетические методы повышения продуктивности с.-х. животных. — М.: Росинформагротех, 2006. — С. 3–10.

2. Сокрут В. И., Говтвян В. А., Сметанин В. Т., Повод Н. Г. Свины селекции Днепропетровского СХИ и их использование в областной системе разведения // Интенсиф. селекционн. процесса в свиноводстве: Межвуз. сб. науч. тр. — Персиановка, 1989. — С. 154–156.

3. Сметанін В. Т. Селекційно-генетичні методи збереження локальних порід свиней (на прикладі популяції селекції Дніпропетровського СГП): Методичні рекомендації. — Дніпропетровськ, 2007. — 14 с

4. Сметанін В., Алейніков В. Дивергенція та її формування між генеалогічними структурами закритої популяції свиней // Тваринництво України. — 2006. — № 11/12. — С. 14–16.

5. Інструкція з бонітування свиней. Інструкція з ведення племінного обліку у свинарстві. — К.: Видавнично-поліграфічний центр «Київський університет», 2003. — 64 с.

Резюме

Проведено изучение репродуктивных качеств крупной белой и украинской мясной пород при различных схемах разведения. Проанализированы также показатели набора живой массы и сохранности поросят в постнатальный период. Установлено, что наилучшее сочетание родительских генотипов, значительно повышающие жизнеспособность поросят, обеспечивается при покрытии свиноматок крупной белой инбредными хряками украинской мясной породы.

Проведено вивчення репродуктивних якостей великої білої і української м'ясної порід за різними схемами розведення. Проаналізовані також показники набору живої маси та збереженості поросят у постнатальний період. Встановлено, що най-

краще поєднання батьківських генотипів, що значно підвищує життєздатність поросят, забезпечується при заплідненні свиноматок великої білої породи інбредними хряками української м'ясної породи.

The reproductive qualities of large white and ukrainian meat breeds in different breeding schemes were studied. Indicators of set live mass and safety of piglets in postnatal period are also investigated. The desirable combination of parental genotypes that significantly increase the piglet's viability provides for insemination of large white breed sows with inbred boars of ukrainian meat breed was found.

ХОХЛОВ А. М.

Харьковская государственная зооветеринарная академия

62341, Украина, Харьковская область, Дергачевский район, п/о Малая Даниловка, ул. Академическая 1, e-mail: zoovet@zoovet.kharkov.ua

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ДОМЕСТИКАЦИИ СВИНЕЙ

Современная домашняя свинья является продуктом многовековой эволюции, результатом развития вида под действием естественного и искусственного отбора. Эволюционные изменения всегда начинаются с изменений генетических, которые изменяя ход развития организма, реализуются в фенотипе. Затем, уже на уровне фенотипов вступает в действие отбор [1–4].

В эволюции свиньи можно выделить три периода: преддоместикационный, продолжительностью около 37 млн лет; «неолитический» или доместикационный — 10–12 тыс. лет и пороодообразовательный — более 350 лет [5].

Материалы и методы

При изучении филогенетических процессов при доместикации свиней непосредственным объектом наших исследований был европейский дикий кабан (*Sus scrofa ferus*), роль которого в доместикации недостаточно изучена. Для сравнительного изучения темпов микроэволюции кабана была использована крупная белая порода свиней как модель доместикации и пороодообразовательного процесса в Европе и межлинейные гибриды при сочетании крупной белой породы с хряками ландрас, уэльс, пьетрен, эстонская беконная и другие породы.

При изучении процесса доместикации свиньи провели следующие исследования: археологические (раскопки скелетов диких и одомашненных животных), анатомические (изучение строения черепа, костей, мышц, внутренних органов), зоотехнические (промеры, индексы), гистологические (строение внутренних органов и тканей), морфологические (изучение толщины мышечных волокон) и другие.

Изучение морфогенетического периода онтогенеза провели на 804 эмбрионах и плодах крупной белой породы, и 152 эмбрионах разного возраста дикого европейского кабана (*Sus scrofa ferus*).

Результаты и обсуждение

Микрофилогенез в процессе domestikации свиней. В основу разработ-ки данной проблемы использованы исследования остеологических комп-лексов свиней, полученных из археологических памятников Европы, в том числе и Украины. Каждый вид, каждая порода животных имеют свой банк генов и свою карту фенов. Нами была использована методика немецкого исследователя Тайхерта М. [6], которая позволяет по археологическим на-ходкам костей восстанавливать физический облик животного. По резуль-татам исследования отдельных костей удалось восстановить изменения по высоте в холке у животных на протяжении 10–12 тыс. лет. Так, сред-няя высота в холке у свиней в период неолита — 98 см (83–124 см), в пе-риод «Железного века» — 73 см (57–84 см). Фенотипическое формирова-ние признака было значительно ниже его генетических возможностей, что связано со сложным, принудительным процессом одомашнивания свиней. В период «Римской культуры» наблюдается улучшение развития животно-водства и средняя высота в холке полновозрастных животных составила — 77 см (61–93 см) или на 21 см меньше по сравнению с началом domestikа-ции. Современный пороодообразовательный период характерен развитием животных по высоте в холке — 88 см (82–115 см) или на 10 см меньше, чем у свиней неолитического периода.

Подобная закономерность характерна и для изменений наибольшей длины третьего моляра. В период неолита дикий европейский кабан имел наибольшую длину третьего моляра — $43,9 \pm 1,2$ мм, при незначительном варьировании признака ($C_v = 4,9\%$), а в «Бронзовый век» — $35,1 \pm 1,50$ мм или наблюдается снижение на 8,8 мм ($P > 0,001$). В период «Средневеко-вья» выявлены более существенные изменения признака, произошло сни-жение на 12,90 мм ($P > 0,001$) при $C_v = 19,87$ –12,48%. В период активно-го пороодообразования (XX–XXI век) процесс филогении наибольшей дли-ны третьего маляра достиг — $36,60 \pm 1,10$ мм при $C_v = 8,19\%$ и разнице в длине 7,30 мм ($P > 0,001$). Таким образом, исследование костей скелета дикого европейского кабана и одомашненных свиней на протяжении 4 тыс. поколений позволяет представить формообразовательный процесс и domestikа-цию свиней в Европе, в том числе и в Украине.

Особенности онтогенетической эволюции у свиней. Морфогенети-ческий период есть наиболее важным периодом онтогенеза, периодом наивысшей активности генов, которые обеспечивают фундаментальную за-кладку и развитие основных функциональных систем организма. Основны-ми признаками, которые характеризуют особенности морфогенетического периода онтогенеза, считают показатели живой массы, развитие костяка, мышц и внутренних органов.

Исследования показали, что интенсивность нарастания живой массы у дикого европейского кабана и крупной белой породы свиней неодинакова. Как установлено, с 20-ти дневного возраста и до конца зародышевого пе-

риода напряженность прироста живой массы эмбрионов кабана составила 129,6%, а у крупной белой породы 169,8% или на 40,2% выше. Кратность увеличения живой массы за этот период у зародышей европейского кабана составила 4,68 раза, а у домашней свиньи — 12,23 раза. Следовательно, процесс domestikации затронул зародышевую стадию эмбрионального периода, когда наблюдается более высокая напряженность метаболических процессов у одомашненной свиньи.

Плодная фаза 43–120 дней. В этот период начинается интенсивный процесс формирования телосложения плода за счет развития костной и мышечной ткани.

Изменения скелета диких и домашних свиней в раннем онтогенезе. Кость — самый лабильный орган, который в процессе эволюции приобрел способность к быстрой перестройке, участию во всех обменных процессах, выполнению функций электролитического баланса и кроветворения.

В процессе domestikации свиньи значительные изменения претерпела костная и мышечная ткань, которые находятся в определенной взаимосвязи. К наиболее существенным изменениям относят изменения костяка и особенно черепа у свиней.

Исследование черепов плодов *Sus scrofa ferus* и крупной белой породы были проведены в 50-ти и 70-ти дневном возрасте. Нами были использованы по 11 промеров кальваров и по 4 промера нижней челюсти у плодов изучаемых групп. Существенные различия выявляются в строении черепа уже в эмбриональный период. В 50-ти дневном возрасте наблюдается достоверная разница по массе кальвария ($P > 0,001$). Длина основания лицевого отдела у *Sus scrofa ferus* — $25,80 \pm 0,80$ мм, а у плодов крупной белой породы меньше на 3,47 мм или на 15,4% ($td = 4,2$ при $P > 0,001$).

Мы придавали большое значение развитию хоан и высоте входа в носовую полость, потому что от этих признаков зависит, в некоторой мере, интенсивность вентиляции легких, а отсюда и состояние газового обмена животного организма. Выявлены некоторые различия по высоте входа в носовую полость в 50 — дневном возрасте у *Sus scrofa ferus* $5,66 \pm 0,33$ мм и крупной белой породы $5,06 \pm 0,04$ ($td = 1,82$ при $P > 0,95$).

При изучении грудной конечности обращалось особое внимание на развитие лопатки, плечевой кости, костей предплечья, пястных костей и пальца. Установлена достоверная закономерность, когда у 50-ти дневных плодов дикого европейского кабана все перечисленные кости грудной конечности имели более мощное развитие, чем у плодов крупной белой породы.

В 70-ти дневном возрасте наблюдается обратная зависимость, когда по развитию костей скелета туловища домашние животные превосходили животных дикого европейского кабана. Так, в 70-ти дневном возрасте плоды крупной белой породы имели массу бедренной кости — $0,50 \pm 0,03$ г, а у дикого европейского кабана $0,32 \pm 0,02$ г. Разница достоверна $P > 0,001$. Нами установлено, что у 70-ти дневных плодов крупной белой породы кости ске-

лета головы, кальвария, скелета плечевого и тазового пояса, грудных и тазовых конечностей не только тяжелее, но и имели лучшее развитие по сравнению с плодами дикого европейского кабана, что можно считать филогенетическим или domestикационным проявлением у одомашненных свиней.

Изучение возрастных изменений по живой массе может иметь научные и селекционные значения, если мы углубим исследования морфообразовательных процессов на уровне изменений в мышечной ткани в онтогенезе свиней.

В связи с этим мы поставили задачу изучить возрастные изменения роста и развития отдельных групп мышц у плодов крупной белой породы и дикого европейского кабана в 50-ти и 70-ти дневном возрасте.

Исследования показали, что скорость роста отдельных мускулов у плодов домашних и диких животных различных групп мышц неодинакова. Рассмотрим возрастное развитие мускулов соединяющих грудную конечность с туловищем: широчайший мускул спины, трапецевидный и грудные мускулы (поверхностный и глубокий). Сопоставляя напряженность рост трапецевидного мускула необходимо отметить, что к 70-ти дневному возрасту у плодов диких свиней кратность увеличения этого мускула была 2,49, против 1,41 у крупной белой породы. Однако по развитию большого поясничного мускула наблюдается обратная зависимость. У плодов диких свиней коэффициент роста этого мускула 1,47, против 2,5 — у свиней крупной белой породы.

Особый интерес представляет развитие грудных мускулов (наружного, среднего и внутреннего), они намного превосходят в развитии у диких свиней ($K=2,35$), против домашних свиней ($K=1,69$). Объясняется это приспособлением диких форм в процессе эволюции, к жизни в дикой природе среди хищников и необходимости спастись бегством — имея хорошо развитые мышцы, соединяющие передние конечности с туловищем (т. е. грудные).

Из мускулатуры позвоночного столба особое внимание представляет ет длиннейший мускул спины, который в этой группе занимает наибольший удельный вес, выполняя основную роль в движении туловища. Анализ данных коэффициентов роста этого мускула указывает, что у домашних свиней коэффициент напряженности роста — 125,4, а у диких — 78,4%. Это вызвано длительной селекцией одомашненных свиней на повышение их мясности, т. е. более пышного развития всей мускулатуры в т. ч. длиннейшей мышцы спины.

Мускулатура задней конечности представляет в основном задний окорок, и занимает одно из основных мест при формировании мясных качеств у домашних свиней и отборе их по развитию этой группы мышц. Остановимся на изучении скорости роста у диких и домашних плодов следующих мускулов: двуглавый мускул бедра, ягодичные и четырехглавый мускул бедра. Исходя из анализа коэффициентов роста мускулов тазовой конечности видно, что у плодов крупной белой породы показатели скорости роста превышают темп роста соответствующих мускулов у диких свиней. Так, коэффициент роста четырехглавого мускула бедра у диких — 123,3%, а у домашних — 241,7%. Подобная закономерность сохраняется для двуглавого мускула бедра

соответственно: 124,6 и 171,9%. Наши исследования подтверждают то, что селекционер создавая породы свиней путем многовековой селекции повышал их мясность, значительно изменил абсолютные показатели развития основных групп мышц, особенно мускулатуры тазовой конечности в сравнении с дикими формами. Следовательно, адаптация в развитии мышечной ткани выражается в том, что у диких форм в результате естественного отбора, а у домашних свиней в результате искусственного отбора и гибридизации, на каждом этапе онтогенеза более интенсивно развиваются те группы мышц или частей тела, которые обеспечивают сохранение жизни особи. Эти свойства возникли в процессе микроэволюции вида и закрепились наследственно.

Выводы

1. Разработка приемов повышения мясной продуктивности свиней должна базироваться на закономерностях domestикации и индивидуального развития отдельных органов и тканей. В процессе одомашнивания происходят экстерьерно-конституциональные и изменения в пропорциях телосложения свиней, относительной массе отдельных групп мышц и костей. Установлено, что при одомашнивании свиней увеличивается доля мышц, составляющих мускулатуру таза и поясничного отдела позвоночника, у домашних животных увеличивается скорость роста всех групп мышц телосложения.

2. Изучение формирования костно — мышечной системы в процессе онтогенеза свиней показало различия в процессах остеогенеза и эритропоэза. Более высокая интенсивность остеогенеза характерна для домашней свиньи, что показано при морфологическом и гистологическом изучении берцовой кости. К 70-ти дневному возрасту плодов масса берцовой кости у кабана заметно меньше и составляла 64,0% по сравнению с крупной белой породой. В то же время напряженность эритропоэза была существенно выше у диких свиней, что являться адаптивным проявлением видовых особенностей.

Литература

1. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. — М.: Наука, 1989. — 328 с.
2. Майр Э. Популяции, виды и эволюция. — М.: Мир, 1974—460 с.
3. Рэфф Р., Кофман Т. Эмбрионы, гены и эволюция. — М.: Мир, 1985. — 404 с.
4. Тихонов В. М., Жучаев К. В. Микроэволюционная теория и практика породообразования свиней. — Новосибирск, 2008. — С. 360—377.
5. Хохлов А. М. Генетичний моніторинг domestикації свиней. — Харків: Еспада, 2004. — С. 53—77.
6. Teichert M. Osteometrische Untersuchungen zur Berechnungen der Wiederristhöhe bei Schaffen // Zn.: Archolo-zoological Studies. — Amsterdam, 1975. — S. 12—18.

Резюме

Доместикация животных — уникальная модель формирования вида под влиянием отбора и гибридизации.

Доместикація тварин — унікальна модель формування виду під впливом відбору та гібридизації.

Domestication of animals a unique model of species formation under the influence of selection and hybridization.

БАГАЦКАЯ Н. В., НЕФИДОВА В. Е., МЕДЗЯНОВСКАЯ Е. В.

Государственное учреждение

«Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН»

Украина, 61153, Харьков, пр. 50-летия ВЛКСМ, 52-А, e-mail: iozdp@ukrpost.ua

ОЦЕНКА СПОНТАННОГО И ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАГЕНЕЗА В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ЮВЕНИЛЬНЫМ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

Ювенильный ревматоидный артрит (ЮРА) — хроническое воспалительное заболевание суставов у детей до 16 лет с неизвестной этиологией и сложным патогенезом, характеризующееся неуклонно прогрессирующим течением и сопровождающееся у некоторых больных вовлечением внутренних органов. Следует отметить, что ЮРА регистрируется во всех странах мира и всех климатогеографических зонах с частотой 0,1 % — 5,0 %, причем в разных странах заболеваемость колеблется от 6 до 19 на 100 000 детского населения; среди населения России — от 0,12 до 0,7 %; среди детей в возрасте до 15 лет, жителей г. Харькова, — 0,05 %, а у 15–18 летних — 0,16 %. Проявляется ЮРА деструкцией суставов и сочетается у ряда больных с выраженными внесуставными поражениями [1].

Согласно данным генетического анализа установлено, что ревматоидный артрит (РА) является мультифакториальным заболеванием, которое формируется в результате взаимодействия генотипа и среды и характеризуется пороговым эффектом. Роль генетических факторов в этиологии ЮРА подтверждена семейным накоплением заболевания [10]. Так, в исследованиях [4] показано, что у 1/4 пациентов, страдающих ЮРА, была отягощена наследственность по заболеваниям из группы серонегативных спондилоартритов, у которых близкие родственники страдали ювенильным спондилоартритом. Подтверждением того, что риск РА зависит не только от генетической предрасположенности, но и от действия факторов внешней среды являются эпидемиологические исследования, которые показали, что при наличии сходных генетических факторов наиболее заметное влияние на риск и тяжесть заболевания оказывают климат и проживание в городе [9].

В настоящее время проводится поиск молекулярных нарушений при РА: вставок, делеций, замен оснований, которые кодируют синтез нормального коллагена, протеогликанов и других белков. Ведущую роль в патогенезе РА отводят провоспалительным цитокинам — IL-1b и TNFa, которые

потенцируют каскад воспалительных реакций локально и поддерживают многие системные проявления РА [6].

За детерминацию подверженности к РА, по данным В. А. Мякоткина, также отвечает ген, локализованный на 14-й хромосоме в сегменте q11.2 [8]. Доказано, что значительную роль в предрасположенности к развитию РА имеют антигены системы гистосовместимости HLA. В ряде работ выявлено, что среди больных ЮРА достоверно чаще, чем в популяции, встречались антигены A1, A28, B12, B27, B40, DR1, DR4, DR5, DR8 [4, 11]. Выявлена повышенная частота хромосомных aberrаций у больных ЮРА и выделены наиболее информативные, прогностически значимые показатели: дерматоглифические признаки и варианты С-гетерохроматиновых сегментов хромосом 1 и 9 [3].

Целью настоящего исследования явилась оценка спонтанного и индуцированного мутагенеза у детей и подростков, больных ЮРА.

Материалы и методы

Цитогенетический анализ проведен у 26 детей обоего пола, больных ЮРА, (основная группа) и 30 здоровых сверстников (контрольная группа) в возрасте от 5 до 17 лет, обследованных в ГУ «ИОЗДП НАМН».

Культивирование лимфоцитов периферической крови проводилось по стандартной схеме [7]. Материалом для спонтанного и индуцированного мутагенеза служили препараты хромосом, полученные из культуры лимфоцитов периферической крови. В качестве мутагена-провокатора для исследования возможной скрытой хромосомной нестабильности использовали противоопухолевый антибиотик митомицин С, который вносили в культуру на 67-м часу инкубации в конечной концентрации 3 мкг/мл. Колхицин добавляли в культуру клеток за 3 часа до фиксации. После дополнительной мутагенной обработки культуры *in vitro* анализировали от 50 до 100 метафазных пластинок. Проводилось рутинное и GTG-окрашивание красителем Гимза.

Анализировали от 50 до 100 метафазных пластинок с определением частоты и типов хромосомных аномалий. У больных РА проанализировано 2435 метафазных пластинок до воздействия мутагеном и 2178 — после; всего — 4613 метафазных пластинок.

У подростков контрольной группы изучено 2780 метафаз для исследования спонтанного уровня хромосомных aberrаций и 2445 — после тестирующей мутагенной нагрузки, всего 5225 метафазных пластинок.

Метафазные пластинки изучались с помощью бинокулярных микроскопов «Leica Galen III», «Ergoval» и «Leica CME», окуляр 10x18, объектив 100x, бинокулярная насадка 1,25x.

Статистические расчеты выполнены на PC с использованием прикладного пакета программ *Excel*, «SPSS Statistics 17,0». Для выявления значимости различий между сравниваемыми показателями использовали критерий Стьюдента [2].

Результаты и обсуждение

Согласно данным цитогенетического анализа, проведенного в изучаемых группах, кариотип у всех обследованных лиц соответствовал женскому (46, XX) или мужскому (46, XY). Среднегрупповая частота хромосомных aberrаций у больных ЮРА почти в два раза превышала уровень хромосомных нарушений у лиц контрольной группы, который находился в пределах, характерных для спонтанного хромосомного мутагенеза у здоровых лиц, проживающих в различных регионах [5].

Анализ спектра спонтанных хромосомных нарушений показал, что в лимфоцитах больных ЮРА значительно чаще регистрировались aberrации хроматидного типа (одиночные фрагменты), частота их составляла 2,05 % у больных ЮРА и 0,83 % — у здоровых сверстников. Среди aberrаций хромосомного типа выявлялись парные фрагменты (1,03 % и 0,83 % соответственно), преждевременное расхождение центромер (0,25 % и 0,11 % соответственно), разрывы по центромере (0,29 % и 0,07 % соответственно), и их частота в обеих группах не имела статистически значимых различий. В основной группе обнаружены единичные случаи удлинения центромер и дупликации длинных плеч акроцентрических хромосом. В то же время у здоровых лиц такие нарушения не определялись. Практически с одинаковой частотой встречались нарушения геномного типа и у больных ЮРА (0,53 %) и у здоровых сверстников (0,65 %).

При определении чувствительности хромосом больных ЮРА к генотоксическому действию митомицина С *in vitro* было установлено, что после воздействия митомицином С на лимфоциты периферической крови 100 % обследованных лиц имели различные нарушения хромосом. Регистрировалось существенное увеличение индуцированного уровня хромосомных aberrаций (в 3,6 раза) у больных ЮРА в сравнении со значениями спонтанного мутагенеза. Выявлено достоверное увеличение aberrаций хроматидного типа (одиночных фрагментов) и числа мультиабберрантных клеток после воздействия модельным мутагеном.

В то же время у здоровых лиц выявлено большее разнообразие хромосомных нарушений. Общая частота хромосомных aberrаций возросла в 6,6 раз после внесения митомицина С в культуральную среду (таблица).

Анализируя частоту различных типов хромосомных нарушений, установили, что aberrации хроматидного и хромосомного типов регистрировались практически с одинаковой частотой как до воздействия митомицином С, так и после мутагенного влияния.

Сравнивая частоту aberrаций до и после нагрузки, установили существенное увеличение (в 9,6 раза) нарушений хроматидного типа (одиночных фрагментов). Частота aberrаций хромосомного типа возросла в 6,3 раза после внесения в культуру лимфоцитов мутагена-провокатора преимущественно за счет парных фрагментов. Исследование индуцированного мутагенеза позволило установить появление мультиабберрантных клеток у лиц

Частота хромосомных aberrаций в лимфоцитах периферической крови детей и подростков, больных ревматоидным артритом, и здоровых лиц до и после мутагенной нагрузки митомицином С, %

Типы aberrаций	Больные ЮРА		Здоровые сверстники	
	до нагрузки, n = 2435	после нагрузки, n = 2178	до нагрузки, n = 2780	после нагрузки, n = 2445
Хроматидный тип	2,05 ± 0,29	11,39 ± 0,68*	0,83 ± 0,17	7,93 ± 0,55*
В том числе: одиночные фрагменты терминальные делеции	2,05 ± 0,29 —	11,29 ± 0,68* 0,09 ± 0,06	0,83 ± 0,17 —	7,89 ± 0,55* 0,04 ± 0,04
Хромосомный тип	1,44 ± 0,24	1,47 ± 0,26	0,90 ± 0,18	5,69 ± 0,47*
В том числе: парные фрагменты преждевременное расхождение центромер нерасхождение хромосом разрывы по центромере	1,03 ± 0,20 0,25 ± 0,10 0,04 ± 0,04 0,29 ± 0,11	1,19 ± 0,23 0,46 ± 0,14 0,14 ± 0,08 0,23 ± 0,10	0,83 ± 0,17 0,11 ± 0,06 — 0,07 ± 0,05	5,36 ± 0,46* 0,29 ± 0,11 — 0,29 ± 0,11
Полиплоидные клетки	0,25 ± 0,10	0,46 ± 0,14	0,54 ± 0,14	0,53 ± 0,15
Мультиабберрантные клетки	0,00 ± 0,00	0,55 ± 0,16*	0,00 ± 0,00	0,29 ± 0,11*
Всего	4,02 ± 0,40	14,46 ± 0,75*	2,34 ± 0,29	15,46 ± 0,73*

Примечание: n — количество проанализированных метафазных пластинок;

* — достоверность различий в группе больных ЮРА до и после воздействия мутагена;

* — достоверность различий в группе здоровых до и после воздействия мутагена.

контрольной группы. Геномные нарушения (полиплоидные клетки) практически с одинаковой частотой встречались в интактных и обработанных митомицином С культурах.

Изучая изменения общего уровня и различных типов aberrаций хромосом в каждой группе отдельно после дополнительной мутагенной обработки культур, обнаружили значимое увеличение частоты одиночных фрагментов у больных ЮРА (11,29%, $p < 0,001$), а у здоровых лиц — парных фрагментов (5,36%, $p < 0,001$). Однако частота индуцированного мутагенеза в группах сравнения практически не различалась (14,46% у больных ЮРА и 15,46% у здоровых сверстников), что можно объяснить одинаковым адаптивным откликом в ответ на мутагенное воздействие.

Таким образом, в результате проведенного цитогенетического анализа выявлено значимое увеличение спонтанного мутагенеза у больных ЮРА в 1,7 раз в сравнении со здоровыми сверстниками, в то время как частота индуцированного мутагенеза в обеих группах была практически одинаковой.

Литература

1. Алексеева Е. И., Литвицкий П. Ф. Ювенильный ревматоидный артрит: этиология, патогенез, клиника, алгоритмы диагностики и лечения: рук. для врачей, преподавателей, науч. сотр. / Под общ. ред. А. А. Баранова. — М.: ВЕДИ, 2007. — 368 с.
2. Атраментова Л. А., Утевская О. М. Статистические методы в биологии: учебник для студ. высш. зав. — Горловка: Ліхтар. — 2008. — 248 с.
3. Багацкая Н. В. Характеристика цитогенетических и дерматоглифических показателей при ювенильном ревматоидном артрите: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. — Х., 1991. — 17 с.
4. Беневоленская Л. И., Мякоткин В. А., Ондрашик М. и др. Клинико-генетические аспекты ревматических болезней. — М.: Медицина, 1989. — С. 100–141.
5. Болтина И. В. Использование показателя «частота аберраций хромосом» при формировании групп риска относительно онкологических заболеваний // Цитология и генетика. — 2007. — № 1 — С. 66–74.
6. Лукьянова Е. М., Омельченко Л. И. Ревматоидный артрит у детей. — К.: Книга плюс, 2002. — 175 с.
7. Зерова-Любимова Т. Е., Горовенко Н. Г. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: методичні рекомендації. — К., 2003. — 25 с.
8. Мякоткин В. А., Мошина М. А., Алексеева Л. И. и др. Поиск генов предрасположенности к ревматоидному артриту // Вестник РАМН. — 2003. — № 7. — С. 27–30.
9. Хаяви О. Клинико-генетические аспекты ревматоидного артрита: дисс. ... д-ра мед. наук. — М., 2006. — 113 с.
10. Шаранова Е. П. Клинические и генетические особенности семейного ревматоидного артрита (РА): дис. ... канд. мед. наук. — М., 2004. — 135 с.
11. Jaakkola E., Herzberg I., Laiho K. et al. Finnish HLA studies confirm the increased risk conferred by HLA-B27 homozygosity in ankylosing spondylitis // Ann Rheum. Dis. — 2005.

Резюме

Установлены особенности спонтанного и индуцированного митомицином С мутагенеза в лимфоцитах периферической крови больных ювенильным ревматоидным артритом и здоровых сверстников. Определено повышение спонтанного уровня хромосомных аберраций в группе больных детей и подростков.

Встановлено особливості спонтанного та індукованого мітоміцином С мутагенезу в лімфоцитах периферичної крові хворих на ювенільний ревматоїдний артрит і здорових однолітків. Визначено підвищення спонтанного рівня хромосомних аберрацій у групі хворих дітей та підлітків.

Some peculiarities of spontaneous and mitomycin C-induced mutagenesis have been established in the lymphocytes of peripheral blood in patients with rheumatoid arthritis (RA) and in their healthy coevals. An increase in the level of spontaneous aberrations has been determined in the group of children and adolescents with RA.

РОЛЬ МУТАЦІЙ ГЕНА HFE У РОЗВИТКУ ІДІОПАТИЧНИХ ГЕПАТОБІЛІАРНИХ ПОРУШЕНЬ В АСОЦІАЦІЇ З АЛЕЛЯМИ А- ТА В-ЛОКУСІВ HLA І КЛАСУ

В генезі ідіопатичних гепатобіліарних порушень людини суттєве значення мають генетичні чинники. Зокрема, спадковий гемохроматоз (СГХ) — одна з найбільш частих спадкових хвороб, супроводжується ураженнями печінки, підшлункової залози, лімфатичних вузлів. СГХ — аутосомно-рецесивна хвороба з дебютом у дорослому віці, характеризується надмірним, прогресуючим нагромадженням заліза в організмі. При СГХ підвищене всмоктуванням заліза у кишківнику, зумовлене порушенням обміну залізовмісних пігментів, веде до накопичення його в тканинах і органах із подальшим розвитком органічних змін. Класичні ознаки хвороби: цироз печінки, цукровий діабет, пігментація шкіри, болі в животі. Рідко СГХ проявляється у жінок, що пояснюється фізіологічною втратою заліза при менструаціях: поодинокі випадки захворювання у жінок спостерігались при порушенні менструального циклу і в період менопаузи [1].

У 90% випадків причиною СГХ є мутації в гені *HFE* — C282Y та H63D [3]. Мутація C282Y — це міссенс-мутація, яка призводить до заміни цистеїну на тирозин в положенні 282 молекули протеїну. При наявності мутації C282Y *HFE* протеїн втрачає здатність до зв'язування з beta2-мікрोगлобуліном, що призводить до деградації цього білка [4]. В популяції 83% випадків гемохроматозу пов'язані з гомозиготністю за мутацією C282Y [5]. Ген СГХ — *HFE* — кодує протеїн, що взаємодіє з рецептором трансферину і регулює всмоктування заліза у петлях тонкого кишечника [2]. Мінорна мутація H63D виникає внаслідок заміни гістидину на аспарат в положенні 63 молекули протеїну. Дана мутація викликає незначне зниження інгібуючого впливу на трансфериновий рецептор, тому гомозиготи за H63D та компаунд-гетерозиготи C282Y/H63D мають низький рівень фенотипової експресії [6]. Мутації C282Y і H63D були визначені як фактори ризику для розвитку цирозу печінки в пацієнтів з хронічним гепатитом С. Гетерозиготність за мутацією C282Y може призводити до розвитку раку печінки [7, 8].

Ген *HFE* локалізований на короткому плечі теломерної ділянки 6 хромосоми, кодує протеїн, схожий за будовою до молекул І-го класу головного комплексу гістосумісності (МНС) і довгий час вважався одним із гомологів генів МНС (HLA-системи). Відповідно, небезпідставними є припущення тісної взаємодії між цими ділянками геному, яке проявляється певними клінічними особливостями СГХ. Класичними маркерами успадкування при СГХ є антигени А- та В-локусів HLA І класу. Популяційні досліджен-

ня показали тісне зчеплення між алелями *HFE* та HLA-A3 [9]. Дещо меншу асоціацію було виявлено між *HFE* та HLA-B7 та, в деяких популяціях, HLA-B14.

Метою роботи є вивчення частоти мутацій гена *HFE* серед пацієнтів з ідіопатичними гепатобіліарними порушеннями з оцінкою особливостей клінічного перебігу в асоціації з HLA-A та -B алелями.

Матеріали та методи

Для формування груп пацієнтів проводився детальний збір анамнезу, оцінювалася клінічна картина, проводилися допоміжні методики клінічних та параклінічних досліджень. Дослідження проводили за умови отримання письмової інформованої згоди пацієнтів чи батьків дітей. Проводили виділення та очистку ДНК із лейкоцитів периферійної крові методом висолювання. На подальших етапах дослідження проводили ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro*, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ПЛР проводили в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» («ДНК-технологія», Росія). Використовували ендонуклеази рестрикції, олігонуклеотидні праймери та термостабільну Taq-полімеразу («Fermentas», Вільнюс, Литва). Молекулярно-генетичне дослідження мутацій C282Y та H63D гена *HFE* проводили за допомогою рестрикційного аналізу на продуктах ПЛР та електрофорезу в агарозному гелі. HLA-типуювання проводили з допомогою методу алель-специфічної ПЛР [10]. Отримані сигнали порівнювали з маркерами довжин, і на основі цього детектували розміри отриманих фрагментів.

Результати та обговорення

Проведено клінічне обстеження та диференційну діагностику 70 пацієнтів з хронічними гепатобіліарними порушеннями (ГБП). При ультразвуковому обстеженні у них виявляли збільшення передньо-заднього розміру печінки, зниження ехогенності паренхіми, ознаки інфільтрації печінкових триад, підвищення ехогенності підшлункової залози, нечіткість її контурів, неоднорідність структури.

Проведено виділення ДНК із лейкоцитів периферійної крові у 70 осіб з ГБП. У якості контролю (КТ) використали 50 зразків ДНК практично здорових осіб банку ДНК молекулярно-генетичної лабораторії ДУ «ІСП АМНУ».

У результаті роботи підібрано послідовності праймерів, рестриктази для детекції мутацій C282Y і H63D гена *HFE*. Проведено оптимізацію реакційної суміші та температурно-часових параметрів для проведення ПЛР.

У результаті проведення молекулярно-генетичного аналізу мутацій C282Y і H63D гена *HFE* виявлено у 44 пацієнтів з ГБП. У переважній більшості випадків мутації виявлено в гетерозиготному стані. В трьох пацієнтів з ГБП виявлено мутацію H63D у гомозиготному стані. У незначного числа пацієнтів такий генотип може призвести до розвитку клінічних проявів СГХ.

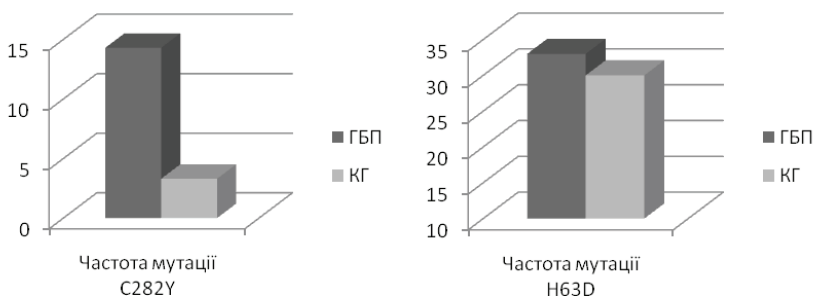


Рис. 1. Частота мутацій C282Y та H63D гена *HFE* у групі пацієнтів з ГБП та контрольній групі

Встановлену в роботі частоту мутацій C282Y і H63D гена *HFE* у пацієнтів з ГБП у порівнянні з контрольною вибіркою приведено на діаграмах (рис. 1).

Як видно з даних, зображених на діаграмах, частота носійства мутації C282Y серед пацієнтів з ГБП була вірогідно вищою, ніж у осіб контрольної групи (14,3% у 3,3%, $\chi^2=4.625$, $P<0.05$). Власне наявність C282Y мутації має більш серйозні клінічні наслідки, ніж H63D. З іншого боку, не було вірогідної відмінності в частоті мутації H63D серед досліджуваних груп пацієнтів.

Проведено генотипування головного комплексу гістосумісності I класу HLA-A та HLA-B локусів (A1, A2, A3, A29, B7, B14, B44, B47, B62) у 25 пацієнтів з ГБП з ідентифікованими мутаціями гена *HFE* та в контрольній групі 20 осіб без мутацій гена *HFE*. Результати дослідження частоти алелів HLA-A та –B локусів в дослідній та контрольній групах приведені у таблиці:

Таблиця

Частота алелів HLA-A та –B локусів в дослідній та контрольній групах

HLA	Частота алелів HLA (<i>q</i>)			
	Носії мутацій гена <i>HFE</i>		КГ	
	n=25	Частота алеля (<i>q</i>)	n=20	Частота алеля (<i>q</i>)
A1	2	0.08	6	0.30
A2	7	0.28	5	0.25
A3	12	0.48*	4	0.20
A29	2	0.08	-	0.00
B7	5	0.20	4	0.20
B14	2	0.08	1	0.05
B44	-	0.00	-	0.00
B47	2	0.08	-	0.00
B62	4	0.16	1	0.05

* — вірогідна різниця показника між досліджуваною та контрольною групами; $p\leq 0,05$.

Як видно з даних, наведених у таблиці, вірогідно вища частота алеля HLA-A3 спостерігалась в дослідній групі порівняно з контрольною (48% v 20%, $\chi^2=3.802$, $P=0.05$), що свідчить про асоціацію між наявністю мутацій гена *HFE* та алеля HLA-A3. Серед пацієнтів дослідної групи було виявлено різні генотипи, які несли алель HLA-A3 в комбінації з іншими алелями HLA: HLA-A3/B7 (n=4), HLA-A3/B47 (n=2), HLA-A3/B62 (n=2) та HLA A3/B14 (n=1).

Проаналізовано характер поєднання різних алельних варіантів генів HLA-системи з клінічними особливостями ГБП з урахуванням спектру мутацій гена *HFE*. Серед 25 пацієнтів з ГБП з ідентифікованими мутаціями гена *HFE* у 5 осіб було діагностовано хронічний ідіопатичний гепатит, у 4 — цироз печінки, у 7 — гепатомегалію. Четверо з п'яти пацієнтів з хронічним ідіопатичним гепатитом мали генотипи HLA-A3/B7, HLA-A3/B62 та HLA A3/B14 відповідно в поєднанні з мутацією C282Y та генотип HLA-A3/B7 в поєднанні з мутацією H63D гена *HFE*.

Виходячи з усього сказаного вище можна припустити, що мутація C282Y гена *HFE* в гетерозиготному стані може виступати фактором ризику розвитку хронічних гепатобіліарних порушень. Наявність алеля HLA-A3 та генотипів з HLA-A3 в асоціації з мутаціями гена *HFE* можуть відігравати важливу роль у схильності до розвитку хронічного ідіопатичного гепатиту, проте підтвердження цього припущення потребує подальших досліджень, можливо, на більшій вибірці пацієнтів.

Встановлення ступеню інформативності різних молекулярно-генетичних маркерів (*HFE* та HLA алелі) для прогнозування схильності до різного роду гепатобіліарних порушень дозволяє розробити заходи щодо впровадження системи критеріїв ранньої діагностики та профілактики цих захворювань.

Висновки

1. Частота носійства мутації C282Y гена *HFE* серед пацієнтів з ГБП була вірогідно вищою, ніж у осіб контрольної групи.
2. Було встановлено значну асоціацію між наявністю мутацій гена *HFE* та алеля HLA-A3.
3. Мутації гена *HFE* та HLA-A та -B алелі є важливими молекулярно-генетичними маркерами для прогнозування схильності до хронічних гепатобіліарних порушень, ранньої діагностики та профілактики цих захворювань.

Література

1. Пузырев В. П. Геномные болезни и исследования человека / Ультразвуковая перинатальная диагностика. — Харьков. — 2002. — № 15. — С. 96–103.
2. Stott M. K., A. P. Fellowes, J. D. Upton et al. Simple Multiplex PCR for the Simultaneous Detection of the C282Y and H63D Hemochromatosis (*HFE*) Gene Mutations // Clinical Chemistry. — 2004. — V. 45, № 3. — P. 426–427.

3. *Nielsen P., S. Carpinteiro, R. Fischer et al.* Prevalence of the C282Y and H63D mutations in the HFE gene in patients with hereditary haemochromatosis and in control subjects from Northern Germany//*Brit. J. Haematol.* — 1998. — Vol. 103. — P. 842–845.
4. *Feder J.N., Z. Tsuchihashi, A. Irrinki et al.* The hemochromatosis founder mutation in HLA-H disrupts α_2 -microglobulin inter action and cell surface expression // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272 — P. 14025–14028.
5. *Wojcik J.P., M.R. Speechley, A.E. Kertesz et al.* Natural history of C282Y homozygotes for hemochromatosis // *Can. J. Gastroenterol.* — 2002. — Vol. 16. — P. 297–302.
6. *Cardoso E.M., P. Stal, K. Hagen et al.* HFE mutations in patients with hereditary haemochromatosis in Sweden // *J. Intern. Med.* — 1998. — Vol. 243. — P. 203–208.
7. *Erhardt A., A. Maschner-Olberg, C. Mellenthin et al.* HFE mutations and chronic hepatitis C: H63D and C282Y heterozygosity are independent risk factors for liver fibrosis and cirrhosis // *J. Hepatol.* — 2003. — Vol. 38. — P. 335–342.
8. *Nelson J.E., R. Bhattacharya, K.D. Lindor et al.* HFE C282Y mutations are associated with advanced hepatic fibrosis in Caucasians with nonalcoholic steatohepatitis // *Hepatology.* — 2007. — Vol. 46. — P. 723–729.
9. *Simon M., Le Mignon L, Fauchet R, et al.* A study of 609 HLA haplotypes marking for hemochromatosis gene: (1) Mapping of the gene near HLA-A locus and characters required to define a heterozygous population; and (2) Hypothesis concerning the underlying cause of association // *Am JHum Genet.* — 1987. — Vol. 41. — P. 89–105
10. *Bunce M.* PCR-sequence-specific primer typing of HLA class I and class II alleles // *Methods Mol Biol.* — 2003. — Vol. 210. — P. 143–171.

Резюме

Частота мутації C282Y серед пацієнтів з гепатобіліарними порушеннями була значно вищою, ніж в контрольній групі. Мутація C282Y може виступати фактором ризику гепатобіліарних порушень. Встановлено асоціацію між мутаціями гена *HFE* та алелем HLA-A3. Алель HLA-A3 і генотипи з HLA-A3 в комбінації з мутаціями гена *HFE* можуть відігравати важливу роль в схильності до хронічного ідіопатичного гепатиту.

Частота мутації C282Y среди пациентов с гепатобилиарными нарушениями была значительно выше, чем в контрольной группе. Мутация C282Y может выступать фактором риска гепатобилиарных нарушений. Установлена ассоциация между мутациями гена *HFE* и аллелью HLA-A3. Аллель HLA-A3 и генотипы с HLA-A3 в комбинации с мутациями гена *HFE* могут играть важную роль в предрасположенности к хроническому идиопатическому гепатиту.

The frequency of C282Y mutation in patients with hepatobiliar disorders was significantly higher than in control group. C282Y mutation may be a risk factor of hepatobiliar disorders. Significant association between *HFE* mutations and HLA-A3 allele was established. HLA-A3 allele and HLA-A3-containing genotypes in combination with *HFE* mutations may play important role in susceptibility to chronic idiopathic hepatitis.

**БИЧКОВА Г. М., РИБЧЕНКО Л. А., СКИБАН Г. В., ТИМШИНА А. М.,
ЯРОШЕНКО Н. С., КЛИМЕНКО С. В.**

*ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України»,
Україна, 04050, Київ, вул. Мельникова, 53, e-mail: anbychkova@mail.ru.*

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ АЛГОРИТМІВ РОЗРАХУНКУ РИЗИКІВ НОСІЙСТВА МУТАЦІЙ У ГЕНАХ BRCA1 ТА BRCA2 У ЖІНОК

В Україні рак грудної залози (РГЗ) займає перше місце серед злоякісних новоутворень у жінок і складає майже 30% всіх онкозахворювань жіночого населення. За даними Національного канцер-реєстру щорічний приріст захворюваності на РГЗ в середньому по Україні складає 3,5%.

Одним з головних факторів розвитку РГЗ є спадкова схильність, яку зумовлюють мутації у високопенетрантних генах BRCA1 та BRCA2. Основна функція цих генів — супресія росту пухлин. Встановлено, що мутації у генах BRCA1 та BRCA2 складають 80% усіх мутацій, які призводять до виникнення спадкового РГЗ. Носії мутацій у цих генах мають протягом життя ризик щодо розвитку РГЗ — 40–80%.

Поширеність мутацій генів BRCA1 та BRCA2 в сім'ях з РГЗ залежить від типу раку, кількості випадків у родоводі, типом споріднення, віком початку захворювання та етнічним походженням. Згідно з Міжнародною базою даних Breast cancer Information Core (BIC), існує декілька сотень різноманітних мутацій у гені BRCA1, що ускладнює їх тестування. Відомо, що для різних етнічних груп характерна мала кількість специфічних мутацій — «ефект попередника». Серед хворих на РГЗ в Україні 9% жінок мають мутації генів BRCA1 (185delAG та 5382insC) та BRCA2 (6174delT). Виявлення носійства мутації є важливим для планування профілактичних заходів, серед яких розглядають доцільність призначення здоровим жінкам гормональних та протипухлинних препаратів і, навіть, мастектомії. Також важливим воно є і для лікування жінок з РГЗ, оскільки алгоритм лікування BRCA-асоційованих раків значно відрізняється від лікування BRCA-неасоційованих.

Найбільш інформативним методом тестування мутацій у генах BRCA1/2 є їх повне сіквенування, але проведення масового тестування жінок є дуже складним та коштовним завданням. Тому актуальним постало питання про виділення груп ризику для проведення молекулярно-генетичного тестування мутацій у цих генах, тобто тестування мутаційного статусу BRCA1/2 має бути запропоноване тільки тим особам, хто найбільш вірогідно є носієм патологічних мутацій. Для визначення цих осіб у клінічній практиці має бути застосоване спеціально розроблене програмне забезпечення — алгоритми розрахунку вірогідності носійства мутацій. До сучасних алгоритмів, розроблених в останні роки відносяться моделі BRCAPRO, Манчестерська бальна система, BOADICEA та IBIS, які базуються на використанні клінічних критеріїв і бальних систем, з одного боку, та емпіричного підходу з іншо-

го. Також ці програми базуються на персональній та сімейній історії випадків РГЗ, на таблицях поширеності мутацій у різних популяціях та етнічних групах, на різних типах успадкування, які припускають розробники.. Найбільш адекватні моделі повинні включати оцінку частоти цих двох мутацій, їх пенетрантність, також вони повинні відрізнятися в різних етнічних чи географічних популяціях. Для розрахунків у алгоритмах використовують різні статистичні підходи, такі, як метод регресійної логістики та метод вірогідності Байєса. У рекомендаціях Національного інституту здоров'я Великобританії пропонується проводити молекулярно-генетичне тестування жінкам, які мають ризик носійства мутації не менший 20%. Валідизація жодного з цих методів в Україні не проводилась.

Метою роботи було провести аналіз існуючих алгоритмів розрахунку ризиків носійства мутацій генів BRCA1 та BRCA2 у жінок для проведення медико-генетичного консультування.

Матеріали і методи

Методи включали медико-генетичне консультування, молекулярно-генетичні дослідження, методи математичної статистики. Молекулярно-генетичні дослідження включали до себе виділення ДНК та ампліфікацію ДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Ампліфікація ДНК за допомогою ПЛР: під час дослідження генів BRCA1 та BRCA2 ампліфікацію ДНК здійснювали в мікропробірках (Eppendorf, Germany) у безолійній системі. Кінцевий об'єм реакційної суміші становив 20 мкл і містив приблизно 20 нг ДНК, 5,0 пмоль кожного із праймерів, 0,35 ммоль dNTPs, 1,0 од Taq полімерази (Amersham Pharmacia, UK), 2 мкл 10× ПЛР буфера. Буфер 10× ПЛР складався із 100 ммоль трис-HCl (pH 8,3), 500 ммоль KCl, 15 ммоль MgCl₂, 0,01 %-ного желатину. Ампліфікацію ДНК здійснювали за допомогою термочиклерів Gene-Amp PCR 2400 та Gene-Amp PCR 9700 (Applied Biosystems, США). Ампліфікація включала початкову денатурацію — 95 °C, 12 хв; 35 цикли денатурації — 94 °C, 15 сек; реасоціації — 57 °C, 15 с; синтезу — 72 °C, 30 с; і фінальний синтез — 72 °C, 5 х в. ПЛР зупиняли охолодженням реакційної суміші до 4 °C. Для мутації 185delAG розміри мутантного та дикого типу ампліконів становили 354 та 335 п. н. відповідно, для 5382insC — 295 та 271 п. н., для 6174delT — 171 та 151 п. н., та для 4153delA — 134 п. н. Продукти ПЛР для візуалізації розділяли шляхом електрофорезу в агарозному гелі, забарвленому бромистим етидієм. Електрофорез проводили протягом 60 хв за постійної напруги 70 В. Гель візуалізували збудженням флуоресценції бромистого етидію за ультрафіолетового випромінювання довжиною хвилі 312 нм і фотографували. Праймери для ампліфікації геномної ДНК були розроблені згідно з послідовністю ДНК, оприлюдненою Chan зі співавторами.

Результати та обговорення

Під час виконання роботи для аналізу нами були обрані моделі розрахунку ризиків носійства мутацій генів BRCA1 та BRCA2: BOADICEA,

BRCAPRO та IBIS, які найбільш поширені у світовій практиці. Модель BRCAPRO враховує аутосомно-домінантний тип успадкування мутацій у генах BRCA1 та BRCA2 та інші захворювання грудних залоз та яєчників. Алгоритм BOADICEA визначає вірогідність носійства мутацій генів BRCA1 та BRCA2 та враховує не тільки ці мутації, але й полігенні модифікуючі фактори, які сприяють розвитку сімейних форм РГЗ. Алгоритми BOADICEA, BRCAPRO та IBIS визначають вірогідність носійства мутацій генів BRCA1 та BRCA2 і вірогідність розвитку РГЗ. Алгоритм BOADICEA включає найбільш докладну інформацію про членів родини пробанда: випадки РГЗ у жінок — родичок пробанда, випадки РГЗ у чоловіків, а також випадки раку передміхурової та підшлункової залоз у членів родини. Програма BRCAPRO використовує інформацію тільки про родичів першого та другого ступенів спорідненості з РГЗ і не включає інформацію про випадки раку передміхурової та підшлункової залоз у членів родини. Алгоритм IBIS включає інформацію про усіх родичів першого та другого ступенів спорідненості, але, як і алгоритм BRCAPRO, не включає інформацію про випадки раку передміхурової та підшлункової залоз у членів родини. IBIS, на відміну від інших програм, враховує ефекти ще таких факторів ризику, як зріст, вага та гормональна замісна терапія.

Усі проаналізовані нами програми враховують чутливість тестів визначення мутацій генів BRCA1/BRCA2, тобто рівень їх детекції. Якщо BOADICEA включає параметри чутливості методів тестування для обох генів в цілому, то до програм BRCAPRO та IBIS треба додавати параметри чутливості тестів для кожного з цих генів окремо.

Для порівняння алгоритмів були використані три основні їх якості: калібровка, дискримінація (роздільна здатність) та точність. Модель вважається добре каліброваною, якщо вона точно передбачає загальну кількість носіїв мутацій генів BRCA1/BRCA2. Калібровка здійснюється шляхом порівняння кількості носіїв мутацій, передбачених алгоритмами (очікувана кількість), з реальною кількістю носіїв. Дискримінація — це здатність моделі встановлювати відмінність між носієм мутації та не-носієм. За допомогою дискримінації проводиться оцінка порогу чутливості — кількості хибно-позитивних та хибно-негативних результатів тестування. Точність — це оцінка, наскільки обчислена вірогідність носійства відповідає мутаційному статусу пробанда. Рівень хибно-позитивних та хибно-негативних результатів визначається за допомогою логістичної регресії.

Результати, отримані при порівнянні алгоритмів:

— краще каліброваною моделлю виявилася модель BOADICEA: в цілому вона вказала на 201 випадок носійства мутацій гену BRCA1 та 158 випадків носійства мутацій у гені BRCA2 у порівнянні з відповідно 211 та 154 випадками, що були підтверджені ретроспективно. Модель BRCAPRO у тій самій групі пацієнтів передбачила 323 випадки носійства BRCA1 та 78 випадків носійства BRCA2, що значно відрізнялися від підтверджених

значень. Модель IBIS показала відповідні значення 184 та 117, які теж відрізнялися більш суттєво, ніж показники моделі BOADICEA.

— за рівнем дискримінації (показники чутливості та специфічності) та точності кращою теж виявилася модель BOADICEA.

Таким чином, за результатами дослідження модель BOADICEA перевищувала моделі BRCAPRO та IBIS за рівнем підтвердження носійства мутацій генів BRCA1 та BRCA2. Також був запропонований поріг генетичного тестування (ризик носійства мутацій, при котрому має бути запропонований ДНК-аналіз), на рівні 10%.

Нами був проведений попередній аналіз моделі BOADICEA. Для аналізу у програму були введені дані про 40 жінок, хворих на РГЗ: 20 жінок з радіаційно-асоційованим РГЗ та 20 жінок зі спонтанним РГЗ. Усім жінкам був проведений ДНК-аналіз мутацій генів BRCA1 та BRCA2, у результаті якого було ідентифіковано дві пацієнки з мутацією 5382insC. Нами було обрано поріг генетичного тестування (ризик носійства мутації, при котрому має бути запропонований ДНК-аналіз) на рівні 10%.

Після введення даних у програму та розрахунку ризиків носійства мутацій нами було отримано такі результати: у 27 жінок (67,5%) ризик був меншим за 5%, у 9 жінок (22,5%) ризик коливався від 5 до 10%, у 4 жінок ризик був вищим за 10%. Таким чином, до групи ризику було віднесено 4 жінки.

При порівнянні результатів ДНК-аналізу мутацій генів BRCA1 та BRCA2 з результатами розрахунку ризиків носійства мутацій за допомогою алгоритма BOADICEA, було визначено, що дві пацієнки з підтвердженою мутацією 5382insC потрапили до групи ризику. Таким чином, із 4-х пацієнок, віднесених до групи ризику, у 2-х було підтверджене носійство мутації, і, відповідно, ефективність програми склала 50%. Отримана ефективність є досить низькою, але цей результат може бути пов'язаний з малою вибіркою хворих. На наступному етапі дослідження планується значно збільшити кількість обстежених хворих і провести розрахунок ефективності алгоритмів на більшій вибірці.

Висновки

За результатами аналізу даних літератури та власних даних щодо існуючих алгоритмів обчислення ризику носійства мутацій у генах BRCA1 та BRCA2 (BOADICEA, BRCAPRO та IBIS) у жінок для проведення медико-генетичного консультування, модель BOADICEA визнана більш ефективною, вона перевищує моделі BRCAPRO та IBIS за рівнем прогнозування носійства мутацій генів BRCA1 та BRCA2.

Для більш ефективного використання моделі BOADICEA для України необхідно провести модифікацію програми, доповнити її даними щодо частоти мутацій, характерних для української популяції. Впровадження ефективного за ціною та надійного за результатом генетичного консультування зробить можливим генетичне тестування мутаційного статусу

BRCA1/2 тільки у тих осіб, які найбільш вірогідно є носіями патологічних мутацій. Визначення носійства мутацій є дуже важливим для прийняття рішення про заходи профілактики та лікування РГЗ.

Література

1. *Присяжнюк А. С., Романенко А. Ю.* Захворюваність на рак молочної залози жіночого населення України до та після аварії на ЧАЕС // Журн. АМН України. — 2007. — Т. 13. — № 4. — С. 676–687.
2. *Antoniou A. C., Hardy R.* Predicting the likelihood of carrying a BRCA1 or BRCA1 mutation: validation of BOADICEA, BRCAPRO, IBIS and the Manchester scoring system using data from UK genetic clinics // J. Med. Genet. — 2009. — Vol. 45. — P. 1425–431.
3. *Cunningham A. P., J. Peto J.* The BOADICEA model of genetic susceptibility to breast and ovarian cancers: updates and extension // Br J Cancer. — 2008. — Vol. 98 (8). — P. 1457–1466.

Резюме

У роботі наведені результати порівняльного аналізу алгоритмів розрахунку ризиків носійства мутацій у генах BRCA1 та BRCA2: BOADICEA, BRCAPRO та IBIS. За результатами дослідження модель BOADICEA визнана більш ефективною, вона перевищувала моделі BRCAPRO та IBIS за рівнем підтвердження носійства мутацій генів BRCA1 та BRCA2.

В работе приведены результаты сравнительного анализа алгоритмов расчета риска носительства мутаций в генах BRCA1 и BRCA2: BOADICEA, BRCAPRO и IBIS. По результатам исследования модель BOADICEA признана более эффективной, она превышала модели BRCAPRO и IBIS по уровню подтверждения носительства мутаций в генах BRCA1 и BRCA2.

The results of comparative analysis of the Risk calculation models of carrying BRCA1 and BRCA2 mutations (BOADICEA, BRCAPRO and IBIS) are presented in our study. As a result of research the model of BOADICEA is acknowledged more effective, it exceeded the models of BRCAPRO and IBIS after the level of confirmation of carrying of BRCA1 and BRCA2 mutations.

**БОДНАР І.В., ЩЕРБАКОВ С.М., ДУМІН Х.Я., ГОРБУЛІНСЬКА С.М.,
БОДНАР Л.С.**

Львівський національний університет імені Івана Франка

Україна, 79005, Львів, вул. Грушевського, 4, e-mail: bodivas@gmail.com

АРОМАТИЗАТОРИ ХАРЧОВОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ ЯК ІНДУКТОРИ ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЙ У *ALLIUM CEPA* ТА *MUS MUSKULUS*

Наявність у харчових продуктах сторонніх та токсичних речовин, які не мають основних фізіологічних властивостей, є однією з найбільш істотних причин, які загрожують здоров'ю й життю людини: призводять до харчової інтоксикації, спричиняють канцерогенні, мутагенні, тератогенні й ембріотоксичні явища [1]. Але, починаючи з середини минулого сторіч-

чя, надзвичайно широкого застосування набули харчові добавки ідентичні натуральним і синтетичні. Їх отримують шляхом хімічного синтезу. І хоча за їх чистотою та складом здійснюється постійний контроль, усе ж вони суттєво небезпечні для здоров'я людини. Значна їх частина є сторонніми (чужорідними), а віддалені наслідки їхнього впливу на організм людини невідомі [2]. Ароматизатори — речовини, що підсилюють смак і аромат, які вносяться в продукти харчування з метою покращення їх органолептичних властивостей [3, 4].

Матеріалом досліджень служили розчини харчових ідентично-натуральних ароматизаторів: рідкі — «Молоко» (компонентний склад: етилацетат, 1-гексен-3-ол, мальтодекстрин), «Яблуко» (компонентний склад: ізоамілацетат, етиллактат, «Тропик» (компонентний склад: етилацетат, деканова кислота), «Фрукти» (ванілін, цитрат натрію, бензоат натрію, ундекалактон, етиллпропіонат), «Вишня» (пропіленгліколь, лимона кислота, цитрат натрію, бензоат натрію, мальтол, молочна кислота) та порошкоподібні: «Рафаело» (ванілін, пропіленгліколь, гамаокталактон), «Масло-вершки» (ванілін, ацетоїн, геліотропін, масляна кислота, диацетил), «Виноград» (етилацетат, мальтодекстрин, цис-3-гексенол). Дослідні концентрації речовин вираховували з розрахунку добової дози на 1 кг середньої маси людини; в ана-телофазному аналізі дослідні концентрації відповідали рекомендованій добовій дозі, та дозі меншій в 10 разів від добової.

Під час ана-телофазного аналізу на тест-об'єкті *Allium cepa* виявлено різні типи порушень в розходженні хромосом до полюсів веретена поділу (відставання хромосом, утворення одинарних та парних фрагментів, мостів), що може бути викликано делеціями та транслокаціями хромосом.

Ароматизатор «Виноград» індукував появу хромосомних аберацій при дії допустимої добової дози та дози зменшеної у 10 разів. Відсоток клітин з аномаліями становив $4,1 \pm 0,15\%$ для дози $0,14$ г/кг та $2,4 \pm 0,09\%$ для дози $0,014$ г/кг. Найчастіше спостерігалось формування одинарних та подвійних фрагментів та хромосомних мостів (табл. 1). Дві концентрації ароматизатора «Яблуко» спричиняли появу хромосомних аберацій різних типів: хромосомних та хроматидних фрагментів, мостів. Відсоток аномалій становив $3,1 \pm 0,06\%$ для дози $0,028$ г/кг та $1,4 \pm 0,07\%$ для дози $0,0028$ г/кг, що перевищує відповідно в п'ять та в два рази показники контролю (табл. 1). Рівень хромосомних аберацій, спричинених дією ароматизатора «Фрукти», концентрацією $0,57$ г/кг становив $2,9 \pm 0,17\%$, що більше ніж в чотири рази вище за показники контролю (табл. 1). Відмічено, що серед усіх виявлених аберацій найчастіше зустрічалися хромосомні та хроматидні фрагменти. Під впливом ароматизатора «Вишня», у дозі, меншій в 10 разів від добової, не спостерігалось значного підвищення рівня хромосомних аберацій. Зразок, концентрацією $0,52$ г/кг (добова доза) спричиняв появу хромосомних аберацій на рівні $2,0 \pm 0,09\%$, що свідчить про слабку мутагенну активність (табл. 1). Для розчинів ароматизатора «Тропик» характерним було

Таблиця 1

Рівень хромосомних аберацій, індукованих харчовими ароматизаторами

Ароматизатор	Добова доза, г/кг	Всього анате- лофаз	Кількість аномальних ана-телофаз						M±m
			абсолют- на кіль- кість	—		[	□	інші	
Виноград	0.14	146	6	2	2	1	-	1	4.1±0.15
	0.014	125	3	1	2	-	-	-	2.4±0.09
Яблуко	0.028	130	4	2	1	1	-	-	3.1±0.06
	0.0028	148	2	1	-	-	-	1	1.4±0.07
Фрукти	0.28	136	4	2	-	1	-	1	2.9±0.17
	0.028	133	1	-	1	-	-	-	0.8±0.12
Вишня	0.26	148	3	2	1	-	-	-	2.0±0.09
	0.026	140	1	-	-	1	-	-	0.7±0.09
Тропик	0.14	152	4	1	1	1	1	-	2.6±0.2
	0.014	156	3	1	1	-	-	1	1.9±0.06
Молоко	0.43	142	4	2	1	1	-	-	2.8±0.12
	0.043	121	2	1	-	-	-	-	1.7±0.15
Масло-вершки	0.28	125	2	-	1	-	-	1	1.6±0.09
	0.028	130	1	1	-	-	-	-	0.8±0.12
Рафасло	0.14	160	8	2	2	2	1	1	5.0±0.26
	0.014	130	4	2	1	-	-	1	3.1±0.09
	Контроль	156	1	1	-	-	-	-	0.6±0.03

— одинарний фрагмент; || — подвійний фрагмент; [— одинарний (хроматидний) міст; □ — подвійний (хромосомний) міст.

збільшення частоти виникнення хромосомних аберацій зі збільшенням дозової дози. Рівень хромосомних аберацій для зразків концентрацій 0,14 г/кг, 0,014 г/кг становив 2,6±0,2% та 1,9±0,06% відповідно (табл. 1). Показники дослідних зразків перевищували такі в контролі в 3–4 рази, що говорить про слабкий мутагенний ефект. Ароматизатор «Молоко» індукував значну появу хромосомних аберацій у випадку зразка концентрацією 0,43 г/кг і становить 2,8±0,12%, що більше ніж в чотири рази перевищує показники контролю. Разова добова доза зменшена в 10 разів, зменшила цей показник до 1,7±0,15%, що менше ніж в три рази перевищує показники контролю (табл. 1). Рівень хромосомних аберацій, спричинених дією ароматизатора «Масло-вершки», коливався від 0,8±0,12% до 1,6±0,09% (табл. 1), що незначно перевищує контрольні дані. Відмічено, що серед усіх виявлених аберацій найчастіше зустрічалися хромосомні та хроматидні фрагменти. Під дією ароматизатора «Рафаело» рівні хромосомних аберацій значно перевищували показники контролю, що свідчить про сильний мутагенний ефект. Показники становили 5,0±0,26% для концентрації 0,14 г/кг та 3,1±0,09% для концентрації 0,014 г/кг (табл. 1). Цей ефект може бути спричинений поєднанням складників харчового ароматизатора «Рафаело», такими як ванілін та пропіленгліколь.

Проведено аналіз здатності розчинів харчових ароматизаторів індукувати появу хромосомних аберацій в клітинах кісткового мозку *Mus musculus*. Мишам вводили харчові ароматизатори перорально 10 днів по 0,1 мл 4 ти-

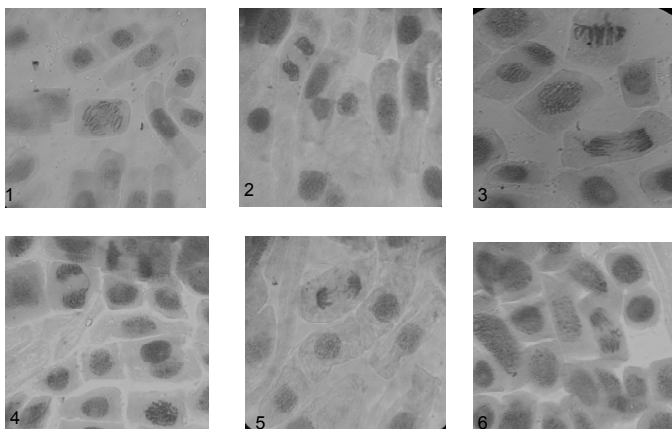


Рис. 1. Патології розходження хромосом до полюсів веретена поділу під час анафазі: 1 — порушення формування веретена поділу, 2–3—транслокації, 4–5 — дицентрики, 6 — фрагментація хромосом

пів: «Виноград», «Яблуко», «Масло-вершки», «Рафаело» в дозі, що відповідала рекомендованій добовій. Під час аналізу препаратів з кісткового мозку *Mus musculus* виявлено різні типи порушень в правильному розходженні хромосом, зміну числа хромосом (анеуплоїдність, поліплоїдність).

Відсоток аномальних метафаз при дії харчового ароматизатора «Виноград» становив 3,7%, що більше ніж в 4 рази перевищує показники контролю. В препаратах було виявлено зміну числа набору хромосом, на стадії метафази воно має становити $2n$, тобто 40.

Серед всіх метафаз було 4, в яких це число становило 20 або 60, тобто n та $3n$ (рис. 2). Такі зміни можуть бути пов'язані з порушенням формування веретена поділу, в результаті чого відбувається неправильне розходження хромосом.

Аналіз препаратів показав, що при дії харчового ароматизатора «Яблуко» кількість аномальних метафаз більше ніж в 5 разів перевищує контрольні дані. В цьому випадку порушення були пов'язані із зміною числа окремих хромосом (анеуплоїдія). Набір хромосом в таких метафазах був $2n+1$, $2n-1$, $2n-2$ (рис. 2).

Харчовий ароматизатор «Масло-вершки» спричинив появу хромосомних аберацій різних типів: зміни числа набору хромосом (геномні мутації) та зміни числа окремих хромосом (анеуплоїдія). Рівень хромосомних аберацій становив 5,5%, що значно перевищує рівень в контролі. Нами були відмічені метафази, в яких набір хромосом був $2n-4$ та змінювалось число набору хромосом (рис. 2).

Серед всіх проаналізованих даних, найвищі показники мутагенності виявив порошкоподібний харчовий ароматизатор «Рафаело». Цей показник

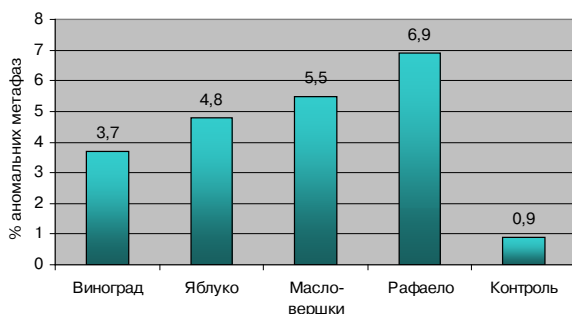


Рис. 2. Співвідношення рівнів хромосомних аберацій у метафазних клітинах кісткового мозку *Mus musculus*, зумовлених дією розчинів харчових ароматизаторів «Виноград», «Яблуко», «Масло-вершки», «Рафаело»

рівний 6,9% і перевищує контрольні дані більше ніж в 7 разів (рис. 2). Така мутагенна активність спричинена поєднанням таких складових харчового ароматизатора як ванілін та пропіленгліколь. Дія такої суміші індукувала появу різних хромосомних аберацій: зміни числа набору хромосом (геномні мутації) та зміни числа окремих хромосом (анеуплоїдія). Очевидно, ці речовини або комплекси цих речовин, впливають на структуру або функціонування черетена поділу, внаслідок чого неправильне розходження хромосом, відставання хромосом.

Таким чином, в результаті проведених досліджень ана-телофазним методом на клітинах кореневої меристеми *Allium cepa* виявлено різні типи порушень у розходженні хромосом. Спостерігали збільшення кількості хромосомних аберацій по відношенню до спонтанного рівня в 3–8 разів при дії водних розчинів ароматизаторів концентрацією добової дози. Найвищі показники мутагенності проявив порошкоподібний харчовий ароматизатор «Рафаело». Найчастіше зустрічалися одинарні та подвійні делеційні фрагменти, які можуть бути результатом дії алкільних хімреагентів (ванілін, пропіленгліколь, діацетил та ін.), а також структур, в основі яких є бензольні кільця (геліотропін, ванілін, мальтол та ін.).

При дії водних розчинів ароматизаторів «Тропик», «Яблуко», «Виноград», «Молоко», «Рафаело» концентрацією зменшеною в 10 разів від добової дози спостерігали збільшення кількості хромосомних аберацій по відношенню до спонтанного рівня в 2–5 разів. При дії водних розчинів ароматизаторів «Масло-вершки», «Вишня», «Фрукти» концентрацією зменшеною в 10 разів від добової дози відсоток аномальних ана-телофаз не перевищував такий для контролю.

Показано індукування хромосомних аберацій в клітинах кісткового мозку *Mus musculus* при дії харчових ароматизаторів «Виноград», «Яблуко», «Масло-вершки», «Рафаело». Доведено, що дані зразки здатні індукувати зміну числа набору хромосом (геномні мутації) та зміну числа окремих хромосом (анеуплоїдію). Найвищі показники мутагенності проявив порошкоподібний харчо-

вий ароматизатор «Рафаело» (6,9%), при дії ароматизатора «Яблуко» — 4,8%, ароматизатора «Виноград» — 3,7%, ароматизатора «Масло-вершки» — 5,5%. Дані результати можуть бути зумовлені дією хімічних складових ароматизаторів, а саме: ванілін, пропіленгліколь, етилацетат.

Література

1. *Бытовая экология* / И. А. Домашов, В. А. Коротенко, А. В. Кириленко. Е. А. Постнова // Под общ. Ред. В. А. Коротенко. — Б.: 2004. — 300 с.
2. Гончаренко Т. П. Харчові добавки як об'єкт моніторингових досліджень / Гончаренко Т. П. Гончаренко О. Г. // Екологія довкілля та безпека життєдіяльності. — 2008. — № 4. — 2008. — С. 81–84.
3. Булдаков А. С. Пищевые добавки. Справочник / Булдаков А. С. — Санкт-Петербург: «Ут», 1996. — 240 с.
4. Скурихин И. М. Все о пище с точки зрения химика: Справ. Издание / Скурихин И. М., Нечаев А. П. — М.: Высш. Шк. 1991. — 288 с.

Резюме

Досліджено вплив ароматизаторів харчової промисловості на здатність індукувати хромосомні аберації. Найвищі показники мутагенності в ана-телофазному аналізі на *Allium cepa* проявив ароматизатор «Рафаело» (найчастіше зустрічалися одинарні та подвійні делеційні фрагменти), у метафазному аналізі на *Mus musculus* — ароматизатори «Рафаело», «Яблуко» та «Виноград» (зміни числа набору хромосом та зміни числа окремих хромосом).

Исследовано влияние ароматизаторов пищевой промышленности на способность индуцировать хромосомные аберрации. Наивысшие показатели мутагенности в ана-телофазном анализе на *Allium cepa* проявил ароматизатор «Рафаело» (чаще всего встречались одинарные и двойные делеционные фрагменты), в метафазном анализе на *Mus musculus* — ароматизаторы «Рафаело», «Яблоко» и «Виноград» (изменения числа набора хромосом и изменения числа отдельных хромосом).

Conducted research of flavours of food industry on ability to induce chromosomal aberrations. The greatest indexes of mutagenicity in a ana-telophase analysis on *Allium cepa* showed flavour «Rafaello» (mostly there were single and double deletion fragments), in a metaphase analysis on *Mus musculus* — flavours «Rafaello», «Apple» and «Grape» (mostly there were changes to the number of sets of chromosomes and changes to the number of separate chromosomes).

ВАГИНА И. Н., АНОПРИЕНКО О. В., ЗАХАРУК Е. А., МОРОЗОВА Л. М., СТРОКОВСКАЯ Л. И.

*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,
Украина, 03680, Киев, ул. Заболотного, 150; e-mail: ira_vag@ukr.net*

ИНГИБИРОВАНИЕ РОСТА МЫШИНОЙ МЕЛАНОМЫ ФЕТАЛЬНЫМИ ФИБРОБЛАСТАМИ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИМИ IFN-В IN VIVO

Применение генетически модифицированных («векторных») клеток, обеспечивающих доставку к опухоли терапевтических агентов, а также высокий локальный уровень их продукции — одно из наиболее перспектив-

ных направлений в противоопухолевой терапии. Такие «клеточные векторы» включают в себя — модифицированные *ex vivo* клетки, обладающие определенным тропизмом к опухоли, рекомбинантный вектор и гены, кодирующие терапевтический агент. Одним из наиболее перспективных источников векторных клеток являются мезенхимальные стволовые клетки (МСК), также используются зрелые фибробласты и в последнее время, возрастает интерес к использованию фетальных фибробластов. Культивированные фетальные фибробласты используют для заживления раневых и ожоговых поверхностей, это обусловлено их способностью вырабатывать элементы межклеточного матрикса, секретировать факторы роста и другие митогены, необходимые для паракринной регуляции [1]. Фетальные фибробласты, являющиеся фетальными стволовыми клетками, обладают более широкими потенциями по сравнению с фибробластами взрослого организма, быстрее размножаются в культуре *in vitro* и также могут являться потенциальным источником для получения «клеточных векторов». Данные представленные нами ранее свидетельствуют об эффективности использования рекомбинантных бакуловирусов для переноса экзогенов в клетки млекопитающих [2]. В качестве активного вещества в противоопухолевой терапии исследуется β -интерферон (IFN- β). Известно, что IFN- β усиливает апоптоз опухолевых клеток, осуществляет торможение ангиогенеза в опухолевых тканях, снижает частоту метастазирования [3, 4]. Однако интерферон проявляет незначительную активность против опухолей человека, вероятно, вследствие его токсичности при увеличении концентрации в сыворотке крови пациентов, а также достаточно короткого периода «жизни» в организме [5]. Доставка интерферона к опухоли с помощью векторных клеток призвана обойти проблему токсичности терапевтических доз IFN- β . В ряде модельных экспериментов была продемонстрирована эффективность использования такого подхода [4, 5, 6]. В качестве экспериментальной модели опухоли была использована меланома мыши B16, которая характеризуется коротким инкубационным периодом, быстрым ростом, типичным метастазированием (легкие). Исследования последних лет показали, что клетки опухолевого микроокружения, в частности опухолеассоциированные фибробласты, могут играть активную роль в инициации и прогрессии злокачественных новообразований [7–9]. Клетки опухолевой стромы могут быть источником многочисленных ростовых факторов и белков внеклеточного матрикса, влияющих на пролиферацию трансформированных клеток, а также на их миграционную активность [4]. Показано, что сигнальные белки посредством которых усиливается деление клеток опухолевой стромы, могут также быть посредниками для внедрения и пролиферации мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в опухолях. Предварительно нами было показано, что Ifn- β , синтезируемый клетками фетальных фибробластов (Ifn β -C57Fb) ингибирует пролиферацию опухолевых клеток меланомы мыши (MM4) *in vitro* [10]. С целью проверки полученного эф-

фекта *in vivo*, проведено изучение влияния совместного введения фетальных фибробластов мыши (C57Fb), трансдуцированных бакуловирусным вектором (БВ) с геном мышинового β -интерферона и клеток мышинной меланомы (ММ4) на опухолеобразование и продолжительность жизни самок мышей линии C57BL/6j.

Материалы и методы

Сингенная мышинная модель

В работе использовали самок мышей линии C57BL/6j (3х-4х месячного возраста). Мыши были получены из питомника РАМН «Столбовая.» Для получения сингенной модели суспензию клеток меланомы мыши (ММ4) в концентрации 2×10^5 клеток/мышь вводили отдельно или в смеси с фетальными фибробластами (C57Fb) подкожно в правую заднюю лапу во всех исследуемых вариантах. Затем фиксировали время появления опухоли и продолжительность жизни экспериментальных животных.

Клеточные линии. Монослойную культуру клеток насекомых Sf21 выращивали в среде TC-100 (Sigma) с добавлением 10% FBS при 28 °С. Рекомбинантные бакуловирусы нарабатывали как описано ранее [11]. Мышинные фетальные фибробласты линии C57BL/6j (C57Fb), получали из мягких тканей 14-дневных эмбрионов методом ферментативной дезагрегации ткани, в эксперименте использовали 2–3 пассажи. Так же была использована сублиния клеток меланомы мыши (B16) ММ4. Все линии клеток культивировали в среде DMEM (Sigma) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки FBS (Sigma), 100 ед/мл пенициллина и 100 мкг/мл стрептомицина при 37 °С в CO₂-инкубаторе.

Бакуловирусный вектор (БВ) и трансдукция фетальных фибробластов

Бакуловирусный вектор получали на основе вируса ядерного полиэдроза *Autographa californica* (AcMNPV) в экспрессионной системе Bac-to-Bac (Invitrogen). Был сконструирован бакуловирусный вектор Ac-CMV-IFN, содержащий ген мышинового β -Ifn под регуляцией промотора CMV. Вирус концентрировали центрифугированием при 100 000g. Титр вирусных препаратов после амплификации и концентрирования составлял $2-4 \times 10^8$ БОЕ (бляшкообразующих единиц)/мл. Трансдукцию проводили в оптимизированных нами предварительно условиях [12]. Фетальные фибробласты инкубировали с рекомбинантными бакуловирусами в концентрации 200 moi (multiplicity of infection = количество БОЕ на клетку).

Результаты и обсуждение

Для проверки антипролиферативной и возможной противоопухолевой активности «векторных клеток» *in vivo* изучали влияние фетальных фибробластов мыши (C57Fb) трансдуцированных бакуловирусным вектором с геном мышинового интерферона (Ifn β -C57Fb) на пролиферацию клеток меланомы (ММ4) и опухолеобразование при их совместном введении самкам мышей линии C57BL/6j (сингенная модель трансплантации). Клеточную суспензию в объеме 200 микролитров вводили подкожно в пра-

вую заднюю лапу животных во всех исследуемых вариантах. В опытной группе самкам C57BL/6j совместно вводили трансдуцированные фетальные фибробласты мыши (Ifn β -C₅₇Fb) и клетки меланомы (ММ4) в соотношении 1:10 — (2x10⁴:2x10⁵) на самку. Такое соотношение клеток выбрано на основании результатов изучения частоты распределения МСК в стромах опухоли легких, после их совместного введения с опухолевыми клетками меланомы человека (A375SM) внутривенно бестимусным мышам [4]. Максимальная частота меченных МСК составляла 10 % от всех клеток опухоли. Исходя из этого, мы предположили, что при локальном введении векторных клеток соотношение 1:10 будет оптимальным.

В качестве контроля использовали следующие варианты:

1. Смесь фетальных фибробластов (C₅₇Fb) и клеток меланомы (ММ4) мыши в таком же количестве и соотношении как в опытной группе (1:10).
2. Клетки меланомы мыши (ММ4) — 2x10⁵ клеток на самку.
3. Клетки меланомы мыши (Ifn β -ММ4), трансдуцированные бакуловирусным вектором Ас-М-IFN — 2x10⁵ клеток на самку.
4. Фетальные фибробласты мыши (C57Fb) — в том же количестве, что и в предыдущих вариантах.
5. Фетальные фибробласты мыши (Ifn β -C57Fb), трансдуцированные бакуловирусным вектором Ас-М-IFN — в том же количестве, что и в предыдущих вариантах.

Эффективность противоопухолевого действия «векторных клеток» Ifn β -C57Fb оценивали по способности к ингибированию роста опухолей и увеличению средней продолжительности жизни животных, по сравнению с контролем. Во всех вариантах фиксировали время появления опухоли и продолжительность жизни экспериментальных животных. Результаты исследований приведены в таблице.

Таблица

Эффективность ингибирования опухолевого роста *in vivo* после совместного введения клеток меланомы (ММ4) и трансдуцированных фетальных фибробластов (Ifn β -C57Fb) мыши

Варианты введенных клеток	Время появления опухолей, (среднее значение, дни)	Средняя продолжительность жизни самок (дни)
Ifn β -C57Fb:ММ4 (2x10 ⁴ :2x10 ⁵)	29	50 (40–69)
C57Fb: ММ4 (2x10 ⁴ :2x10 ⁵)	14	31 (22–34)
ММ4 (2x10 ⁵)	14	30 (24–35)
Ifn β -ММ4 (2x10 ⁵)	27	43 (35–49)
C57Fb (2x10 ⁵)	—	—
Ifn β -C57Fb (2x10 ⁵)	—	—

Представленные данные свидетельствуют о том, что при совместной подкожной инъекции трансдуцированных фибробластов мыши (Ifn β -C57Fb) и клеток меланомы (ММ4) самкам C57BL/6j происходит ингибирование опухолевого роста и увеличение средней продолжительности жизни

животных: 50 дней по сравнению с 30 днями в контроле, в случае когда вводили только клетки меланомы (ММ4), и 31 день при совместном введении фетальных фибробластов и клеток меланомы мыши. Соответственно в опытной группе опухоли у самок С57BL/6j появлялись только через 29 дней после совместной инъекции клеток, а в контроле — через 14 дней.

Таким образом, интерферон β (Ifn- β), продуцируемый трансдуцированными фибробластами мыши при их совместном введении с клетками меланомы, оказывает тормозящее действие на развитие опухолей у экспериментальных животных, что согласуется с данными литературы. Так, было показано [5] увеличение продолжительности жизни иммунодефицитных мышей с метастазами легких (полученные в/в введением клеток карциномы груди MDA 231 или меланомы А375SM человека) после внутривенного введения мезенхимальных стволовых клеток человека, трансдуцированных рекомбинантным аденовирусом с геном Ifn β (ксенографная модель). При этом внутривенное введение рекомбинантного IFN β не оказывало такого воздействия. В нашей работе использована сингенная модель — иммунокомпетентные мыши линии С57BL/6j, которым вводили клетки мышинной меланомы (ММ4) и фетальные фибробласты той же линейной принадлежности (С57Fb), трансдуцированные рекомбинантным бакуловирусом, несущим ген мышинного β -Ifn. Такая модель более адекватна для изучения сложных взаимодействий между опухолевыми и векторными клетками, а также для оценки противоопухолевого потенциала IFN β , продуцируемого фетальными фибробластами. Совместное введение опухолевых и векторных клеток позволило проследить за их непосредственным взаимодействием в месте введения экспериментальным животным с функциональной иммунной системой. Возможно, поэтому даже однократное введение 10% трансдуцированных фетальных фибробластов замедляло образование опухолей и приводило к увеличению продолжительности жизни животных. Вероятно интерферон β , продуцируемый трансдуцированными фетальными фибробластами (Ifn β -С57Fb), локально в опухолевом микроокружении ингибировал пролиферацию злокачественных клеток *in vivo*. Известно, что IFN β может вызывать регрессию опухоли как косвенно, через иммуномодулирующее и антиангиогенное воздействие, так и непосредственно, через антипролиферативное воздействие на злокачественные клетки [4]. Результаты эксперимента *in vitro* подтвердили, что IFN β , продуцируемый фетальными фибробластами (Ifn β -С57Fb), ингибирует пролиферацию клеток меланомы в присутствии иммунной системы. Поэтому мы предполагаем, что супрессия опухоли в представленной модели *in vivo* связана с прямым антипролиферативным воздействием интерферона β на клетки мышинной меланомы. При сравнении контрольных вариантов, когда вводили смесь фетальных фибробластов (С57Fb) и клеток меланомы (ММ4) мыши в таком же количестве и соотношении, как в опытной группе (1:10), с вариантом, при котором вводили только опухолевые клетки — отличий не обнаружено как

по времени появления опухоли (14 день), так и по средней продолжительности жизни животных (31–30 дней).

Интересные результаты получены при введении клеток меланомы мыши, трансдуцированных бакуловирусным вектором с геном β интерферона (Ifn β -ММ4), самкам линии С57BL/6j. Так же как и в опытном варианте, при этом наблюдалось замедление роста опухолей и средняя продолжительность жизни самок увеличивалась до 43 дней, а время появления опухолей увеличивалось до 27 дней. Несмотря на то, что в эксперименте *in vitro* было показано, что уровень трансдукции клеток мышинной меланомы (ММ4) бакуловирусным вектором с геном β -интерферона составляет только 3 % [2], наблюдалось ингибирование пролиферации опухолевых клеток *in vitro*. Так, количество трансдуцированных клеток ММ4 на 5й день культивирования уменьшалось до 5×10^5 кл/мл, по сравнению с контрольными клетками ММ4– $4,8 \times 10^6$ кл/мл, при этом отмечалось увеличение количества апоптотических клеток [10]. Таким образом, данные полученные *in vivo* согласуются с результатами нашего эксперимента *in vitro*.

В последние годы в литературе появились сообщения о спонтанной трансформации МСК при культивировании *in vitro*. По утверждениям ряда авторов трансформации в культуре подвержены главным образом МСК мыши, так же продемонстрирована возможность злокачественной трансформации этих клеток даже на ранних пассажах [13,14]. В связи с этим проведена проверка фетальных фибробластов на туморогенность. Для этого фетальные фибробласты (С57Fb) 2–3 пассажа, а также трансдуцированные фетальные фибробласты (Ifn β -С57Fb) вводили самкам С57BL/6j в концентрации 2×10^5 клеток на самку. Опухоли у таких животных не обнаружены. Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что использование фетальных фибробластов мыши, трансдуцированных бакуловирусным вектором с геном β -интерферона, приводит к ингибированию опухолевого роста и увеличению продолжительности жизни экспериментальных животных, что полностью согласуется с результатами наших исследований *in vitro*. Мы полагаем, что необходимо дальнейшее изучение возможного использования «векторных клеток» как многоцелевого инструмента для изменения микроокружения опухоли в целях противоопухолевой терапии.

Литература

1. De Buys Roessingh A., Hohlfeld J., Scaletta C., et al. Development, characterization and use of a fetal skin cell bank for tissue engineering in wound healing // Cell Transplant. — 2006. — V. 15. — P. 823–834.
2. Аноприенко О.В., Вагина И.Н., Захарук Е.А., Строковская Л.И., Соломоко А.П. Бакуловирусные векторы Ac-Cmv-Gfp, Ac-M-Gfp и Ac-Ifn-Gfp для эффективного переноса генов в клетки млекопитающих // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. — 2010. — Т. 8, № 1. — С. 3–9.

3. Zhang F., Lu W., Dong Zh. Tumor-infiltrating macrophages are involved in suppressing growth and metastasis of human prostate cancer cells by IFN- β gene therapy in nude mice // *Clinical Cancer Research*. — 2002. — V. 8. — P. 2942–2951.

4. Studený M., Marini F. C., Champlin R. E., et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells as vehicles for interferon- β delivery into tumors // *Cancer Research*. — 2002. — V. 62. — P. 3603–3608.

5. Studený M., Marini F. C., Dembinski J. L., et al. Tumor stroma and targeted-delivery vehicles for anticancer agents // *J. Natl. Cancer Inst.* — 2004. — V. 96. — P. 1593–1603.

6. Ling X., Marini F., Konopleva M., et al. Mesenchymal stem cells overexpressing IFN- β inhibit breast cancer growth and metastases through Stat3 signaling in a syngeneic tumor model // *Cancer Microenvironment*. — 2010. — V. 3. — P. 83–95.

7. Ostman A., Augsten M. Cancer-associated fibroblasts and tumor growth — bystanders turning into key players // *Curr. Opin. Genet. Dev.* — 2009. — V. 19. — P. 67–73.

8. Shimoda M., Melody K. T., Orino A. Carcinoma-associated fibroblasts are a rate-limiting determinant for tumour progression // *Semin. Cell Dev. Biol.* — 2010. — V. 21. — P. 19–25.

9. Klopp A. H., Gupta A., Spaeth E., et al. Concise review: Dissecting a discrepancy in the literature: do mesenchymal stem cells support or suppress tumor growth? // *Stem Cells*. — 2011. — V. 29, № 1. — P. 11–19.

10. Вагина И. Н., Аноприенко О. В., Захарук Е. А. и др. Влияние фетальных фибробластов, трансдуцированных рекомбинантным бакуловирусом с геном Ifn- β на пролиферацию клеток меланомы мыши *in vitro* // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. Т. 11 / Відп. ред. В. А. Кунах. — К.: Логос, 2011. — С. 228–233.

11. King L. A., Possee R. D. The baculovirus expression system. A laboratory guide // London: Chapman and Hall, 1992. — P. 220.

12. Вагина И. Н., Аноприенко О. В., Захарук Е. А., Строчковская Л. И., Соломко А. П. Эффективность доставки генов бакуловирусами в клетки млекопитающих *in vitro* // *Biopolymers and cell*. — 2008. — Т. 24, № 6. — С. 508–512.

13. Johns T. G., Mackay I. R., Callister K. A. et al. Antiproliferative potencies of interferons on melanoma cell lines and xenografts: higher efficacy of interferon β // *J. Natl. Cancer Inst.* — 1992. — V. 84. — P. 1185–1190.

14. Zhou Y. F., Bosch-Marce M., Okuyama H. et al. Spontaneous transformation of cultured mouse bone marrow derived stromal cells // *Cancer Res.* — 2006. — V. 66. — P. 1049–54.

Резюме

Показано, что использование фетальных фибробластов мыши, трансдуцированных бакуловирусным вектором с геном β -интерферона (Ifn β -C57Fb), при совместном введении с клетками меланомы приводит к ингибированию опухолевого роста и увеличению продолжительности жизни экспериментальных животных.

Показано, що використання фетальних фібробластів миші, трансдукованих бакуловирусним вектором з геном β -інтерферону (Ifn β -C57Fb), при сумісному введенні з клітинами меланомою призводить до інгібування пухлинного росту і збільшення тривалості життя експериментальних тварин.

It was shown that murine fetal fibroblasts, transduced with the baculovirus expression vector carrying mouse β -interferon gene (Ifn β -C57Fb), cause tumor growth inhibition and increase life-span of experimental animals during coinjection with melanoma cells.

АНАЛІЗ ФАКТОРІВ РИЗИКУ ДО НАРОДЖЕННЯ ДІТЕЙ З «МОДЕЛЬНИМИ» ПРИРОДЖЕНИМИ ВАДАМИ РОЗВИТКУ У ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ЗА ДАНИМИ КАТАМНЕСТИЧНОГО СПОСТЕРЕЖЕННЯ

За останнє десятиліття проблема вродженої та спадкової патології набула серйозного медико-соціального значення по ряду причин. По-перше, суттєво зросла питома вага природжених вад розвитку (ПВР) в структурі причин перинатальної та неонатальної захворюваності і смертності. По-друге, не знижується показник дитячої інвалідності, яка в більшості випадків зумовлена природженою та спадковою патологією, причому по показнику втрачених років життя ПВР і спадкові хвороби займають одне із перших місць, залишивши після себе серцево-судинні, онкологічні та інші широко поширені соматичні захворювання. Крім того, лікування хворих з природженою патологією тривале і складне, необхідна медико-педагогічна корекція дефектів та соціальна допомога дітям-інвалідам, що вимагає значних економічних затрат. Аналіз структури захворювань, які призводять до дитячої інвалідності, зумовленої вродженими вадами розвитку показує кореляційний зв'язок із віком дітей — група дітей-інвалідів по ПВР із віком дитини зменшується [1, 2].

Впровадження налагодженої системи профілактики спадкових хвороб, а саме: медико-генетичне консультування, прекоцепційна профілактика, пренатальна діагностика, масова діагностика у новонароджених спадкових хвороб обміну, які піддаються дієтичній та лікарській корекції, диспансеризація хворих та членів їх сімей забезпечує зниження на 60–70 % частоти народження дітей із вродженими вадами та спадковими хворобами. Зокрема проведення комплексного пренатального скринінгу хромосомної патології в Москві за останні роки дозволило знизити кількість дітей із синдромом Дауна на 40 % [3,4]. Протягом останніх 10 років в Красноярську (Російська Федерація) застосовувався комплексний підхід до обстеження вагітних з метою пренатальної діагностики хромосомної патології, що дозволило суттєво збільшити кількість діагностованих випадків хромосомної патології з 18,2 % у 2000 році до 79,2 % у 2010 році [5].

Мета роботи — порівняння репродуктивного, генетичного анамнезу, особливостей перебігу даної вагітності у жінок, які народили дітей з ПВР та контрольної групи, оцінка ризику виникнення ПВР серед новонароджених.

Матеріали і методи

Об'єкт дослідження — випадки природжених вад розвитку у новонароджених пологових установ Львівської області.

Методи та об'єм дослідження — збір та аналіз клініко-епідеміологічних і медико-статистичних даних з джерел первинної документації про дітей, які народились в 2002–2011 роках із ПВР методом «випадок-контроль» шляхом заповнення реєстраційних карт в пологових установах Львівської області. На кожен випадок ПВР заповнено «Карту реєстрації дитини з вродженою аномалією» та, в якості контролю 1–2 «Карти реєстрації здорової доношеної дитини» на здорову доношену дитину цієї ж статі, народжену в найкоротший проміжок часу від дитини з вадою розвитку (згідно методичних рекомендацій «Організація генетичного моніторингу» узгодженою начальником лікувально-організаційного Управління АМН України В. П. Неділько від 17.05. 2002 р. та начальником Управління організації медичної допомоги дітям і матерям МОЗ України Р. О. Моїсеєнко від 21.10.2001 р.) Заповнено 650 карт на дітей із ПВР та 643 карти на здорових дітей. Створено базу ПВР у форматі Excel. За рекомендаціями європейського реєстру брались до уваги наступні вади: аненцефалія, *spina bifida*, енцефалоцеле, гідроцефалія, аномалія, мікродія, щілина піднебіння (без щілини губи), щілина губи (із або без щілини піднебіння), атрезія стравоходу, атрезія прямої кишки, агенезія нирок, редукційні вади кінцівок, полідактилія, омфалоцеле, гастрошизис, дефекти черевної стінки, діафрагмальна кила, транспозиція магістральних судин, гіпоплазія лівих відділів серця, синдром Дауна, МПВР, мікроцефалія, ариненцефалія/голопрозенцефалія, анофтальмія, мікрофтальмія, атрезія хоан, атрезія або стеноз тонкого кишківника, гігоспадія, невизначена стать, епіспадія, екстрофія сечового міхура, кистозна хвороба нирок, трисомія 13, трисомія 18.

Отримані дані стандартизовані згідно Міжнародної статистичної класифікації хвороб та споріднених проблем охорони здоров'я десятого перегляду (МКХ — 10) та оброблено методами варіаційної статистики за допомогою пакету програм «Statistica 5» та Microsoft Excel-2000: визначали середнє арифметичне значення (M), відхилення від середнього арифметичного значення (m), співвідношення шансів ($\text{odds ratio} — OR$), довірчий інтервал співвідношення шансів (Exp), P — величина статистичної значимості.

Шляхом проспективного та ретроспективного аналізу медичної документації пологових установ Львівської області проведено аналіз факторів ризику виникнення ПВР серед новонароджених методом «випадок — контроль» за 2002–2010 роки та 9 місяців 2011 року. За даний період заповнено 650 карту на дітей із природженими вадами розвитку та 643 карти на здорових дітей.

Результати та обговорення

Шляхом проспективного та ретроспективного аналізу медичної документації пологових установ Львівської області проведено аналіз факторів ризику виникнення ПВР серед новонароджених методом «випадок — контроль» за 2002–2010 роки та 9 місяців 2011 року. За даний період за-

повнено 650 карт на дітей із природженими вадами розвитку та 643 карти на здорових дітей.

З ПВР народжені діти від першої вагітності — 48,9%, другої — 24,7, третьої вагітності — 14,1%, четвертої — 6,0%, п'ятої вагітності — 3,2%, шостої — 1,1%, сьомої вагітності — 1,3%; восьмої вагітності та десятої вагітності — 0,33%; в контрольній групі: від першої вагітності народжено 46,7% дітей, від другої — 29,5%, від третьої вагітності — 12,5%, від четвертої — 10,4%, від п'ятої — 1,2%, від шостої, сьомої, дев'ятої та одинадцятої вагітностей — 0,3% дітей. Серед досліджуваної групи перші пологи були у 56,8% матерів, другі — у 32,4% матерів, треті — у 9,8%, четверті — у 1,4%, п'яті та шості — у 0,3%, сьомі — у 0,4% матерів; в контрольній групі: перші пологи були у 51,4% матерів, другі — у 38,2%, треті — у 9,2%, четверті — у 1,2%, шості, восьмі та одинадцяті — у 0,33% матерів.

Вагітність була бажаною — у 94,3% матерів досліджуваної групи, і в 96,7% матерів контрольної групи; небажаною: 4,3% — в групі ПВР та 1,3% — в контрольній групі. Інтервал між останніми вагітностями склав $3,7 \pm 3,2$ років в досліджуваній групі та $4,3 \pm 3,0$ років в контрольній групі ($P > 0,05$).

В групі ПВР перша вагітність закінчилася артифіціальним абортom у 6,5% випадків, в контрольній групі — в 3,4% випадків. Загалом в досліджуваній групі артифіціальних абортів було у 11,5% випадків, в контрольній — 9,1% ($P > 0,05$). Самовільним викиднем закінчилося 49 вагітностей в досліджуваній групі, з них 45 — викидні першого триместру, що становить 6,9% випадків, в контрольній групі самовільний викидень був у 44-ох випадках, з них в першому триместрі — у 39-ти випадках — 6,0% ($P > 0,05$).

Серед матерів групи ПВР померлі діти були у 15-ти випадках, що складає 2,3%, в контрольній групі — у 7-ми випадках, що становить 1,0%. Мертворождення спостерігалися у 20-ти випадках (3,0%) досліджуваної групи та в 2-ох випадках (0,31%) контрольної групи ($P < 0,05$). Середнє значення віку початку менструації у матерів групи ПВР складає $13,5 \pm 1,1$ років і не має статистично значимої різниці ($P > 0,05$) з контрольною групою, де цей показник становить $13,4 \pm 1,2$.

Менструальний цикл матерів обох груп становив 25–35 днів, менструації тривали 3–8 днів. Регулярне вживання гормональних контрацептивів спостерігалось в 1,2% випадків групи ПВР та в 0,9% випадків контрольної групи ($P > 0,05$). Порівняння питомої ваги анемії протягом вагітності в досліджуваній та контрольній групах представлено в таблиці 1.

Під час вагітності анемія була у 44,8% випадків досліджуваної групи та 42,7% — контрольної групи ($P > 0,05$). Ризик народження дитини (odds ratio — OR) з ПВР при анемії у матері складає 1,0 при довірчому інтервалі (0,32; 2,51). Порівняння питомої ваги гестозу першої половини вагітності в досліджуваній та контрольній групах представлено в таблиці 2.

Гестоз першої половини вагітності у матерів був у 32,3% випадків досліджуваної групи та 31,6% — контрольної групи ($P>0,05$). Ризик народження дитини (OR) із ПВР при гестозі першої половини вагітності становить 1,0 при довірчому інтервалі (0,42; 2,53).

Порівняння питої ваги гестозу другої половини вагітності в досліджуваній та контрольній групах представлено в таблиці 3.

Гестоз другої половини вагітності у матерів був у 34,5% випадків досліджуваної групи та 32,7% — контрольної групи ($P>0,05$). Ризик народження дитини (OR) із ПВР при гестозі другої половини вагітності становить 1,0 при довірчому інтервалі (0,54; 2,62).

Імунний конфлікт між матір'ю та дитиною був у 11-ти випадках досліджуваної групи та у 8-ми — контрольної групи. Рентгенорадіологічне обстеження протягом вагітності проводилося у 6-ти випадках групи ПВР та в одному випадку контрольної групи. Перший термін проведення УЗД в досліджуваній групі становив — $17,5 \pm 7,2$, в контрольній — $18,4 \pm 8,3$ тижнів. Вдруге, ультразвукове дослідження в групі ПВР було проведено в се-

Таблиця 1

Порівняння питої ваги анемії протягом вагітності матерів дітей з ПВР та контрольної групи

Анемія	Випадки ПВР		Контрольна група		Співвідношення шансів, OR	P
	кількість, n	питома вага %	кількість, n	питома вага, %		
Присутні	291	44,8	275	42,7	1,0	> 0,05
Відсутні	295	45,4	298	46,3		
Невідомо	64	9,8	70	11,0		

Таблиця 2

Порівняння питої ваги гестозу першої половини вагітності матерів дітей з ПВР та контрольної групи

Гестоз першої половини вагітності	Випадки ПВР		Контрольна група		Співвідношення шансів, OR	P
	кількість, n	питома вага %	кількість, n	питома вага, %		
Присутні	210	32,3	203	31,6	1,0	> 0,05
Відсутні	367	56,4	386	60,0		
Невідомо	73	11,3	54	8,4		

Таблиця 3

Порівняння питої ваги гестозу другої половини вагітності матерів дітей з ПВР та контрольної групи

Гестоз другої половини вагітності	Випадки ПВР		Контрольна група		Співвідношення шансів, OR	P
	кількість, n	питома вага %	кількість, n	питома вага, %		
Присутні	224	34,5	210	32,7	> 0,05	> 0,05
Відсутні	347	53,4	349	54,3		
Невідомо	79	12,1	84	13,0		

редньому — в $24,2 \pm 6,4$ тижнів, в контрольній групі — в $25,8 \pm 6,2$ тижнів. Отже, при проведенні ультразвукового обстеження матерів досліджуваної групи, не виявлено статистично значимої різниці ($P > 0,05$) з контрольною групою.

Двічі до 28 — ми тижнів вагітності УЗ дослідження було проведено у 44,7% випадків групи ПВР та у 50,1% — контрольної групи ($P > 0,05$). Вроджені аномалії при проведенні УЗД виявлено у 56 випадках, що становить 8,6%.

Діагностовано 14 випадків *spina bifida*, 12 — синдроми МПВР; по 1-му випадку менінгоенцефалоцеле, омфалоцеле, атрезії тонкого кишківника, голопрозенцефалії, вродженого гідронефрозу та синдрому Дауна; по 2 випадки гідроцефалії, аненцефалії, кистозної хвороби нирок та агенезії нирок; по 3 випадки атрезії стравоходу, гіпоплазії лівих відділів серця та діафрагмальної киля, у 4-ох випадках спостерігався гастрошизис, в 1-му випадку — ВВР серця та у 2-ох випадках — щілина губи та піднебіння.

Наявність фізичної травми підтверджено у 17-ти випадках досліджуваної групи, а психічний стрес пережили 23 жінки. В контрольній групі фізична травма підтверджена у 5-ти жінок та заперечено психічний стрес.

Ускладненими були пологи у 39,7% випадків групи ПВР та 41,3% — контрольної групи ($P > 0,05$). Патологічні пологи (кесарів розтин) спостерігалися у 47-ми випадках досліджуваної групи матерів, що становить 7,2%, в контрольній групі — у 38-ми випадках (5,9%). Отже, порівнюючи кількість випадків патологічних пологів групи ПВР не виявлено статистично значимої різниці ($P > 0,05$) з контрольною групою.

При порівнянні генетичного анамнезу матерів досліджуваної групи вроджені аномалії виявлено у 9-ти випадках: 3 — природжений вивих стегна, двобічний, 1 — природжений коксартроз кульшових суглобів, косозміщений таз, 1 — полідактилія, 3 — розщелини губи та піднебіння, 1 — вроджена вада серця, 1-вроджена косокість та 1 — стигми дизембріогенезу. У контрольній групі спостерігалось 7 випадків природжених вад розвитку: 5 — природжений вивих стегна, двобічний, 1 — додаткова нирка, 1 — щілина губи.

Серед близьких родичів групи ПВР вроджені аномалії виявлено у 7-ми випадках — 1 — вроджена вада розвитку системи кровообігу, неуточнена (у брата матері досліджуваної групи), 1 випадок — *spina bifida*, 1 випадок — гіпоспадія, 2 — полідактилії (у діда по батьковій лінії та у двоюрідного брата), 4 — розщелини губи та піднебіння. В контрольній групі природжених аномалій та генетичних порушень у близьких родичів не спостерігалось.

В групі дітей з ПВР зареєстрований кровноспоріднений у четвертому поколінні шлюб. В контрольній групі кровноспоріднених шлюбів не було. На обліку в жіночій консультації за місцем проживання перебували всі жінки, за виключенням 18-ти випадків у досліджуваній групі та 10-и — у контрольній.

Таким чином, зареєстровано більшу кількість випадків мертвонароджень (3,0%) у жінок групи ПВР, ніж у жінок контрольної групи (0,31% випадків). Отже, враховуючи вказані особливості репродуктивного анамнезу та перебігу вагітності і пологів, спостерігається статистично значима різниця досліджуваної групи матерів ($P < 0,05$) з контрольною.

Порівнюючи інші особливості гінекологічного анамнезу (порядковий номер вагітності та пологів, інтервал між останніми вагітностями, кількість артифіціальних абортів, самовільних викиднів першого триместру вагітності, кількість померлих дітей, вік початку менструацій, тривалість менструального циклу, регулярне вживання гормональних контрацептивів), перебігу даної вагітності (анемії, гестозу першої та другої половини вагітності, наявність імунного конфлікту, проведення рентгенорадіологічного обстеження, УЗД), ускладнених та патологічних пологів та генетичного анамнезу не виявлено статистично значимої різниці між групою ПВР та контрольною групою ($P > 0,05$).

Перше рангове місце по частоті ПВР за досліджуваний період — 2002–2011 роки у Львівській області займають вади кістково-м'язової системи (полідактилії, редукційні вади кінцівок), на другому місці — щілина губи та піднебіння, на третьому місці — вади статевих органів, на четвертому місці — хромосомні аномалії.

Висновки

1. Порівнюючи спектр показників репродуктивного анамнезу, з ПВР народжені діти найчастіше від першої вагітності — 48,9% та перших пологів — 56,8%, та відповідно в групі контролю — 46,7% і 51,4% протягом періоду 2002–2011 років.

2. Не виявлено статистично значимої різниці щодо відсотку артифіціальних абортів (11,5%), самовільних викиднів (6,9%), померлих дітей (2,3%) у матерів досліджуваної групи ($P > 0,05$) в порівнянні з контрольною (9,1%, 6,0% та 1,0% відповідно).

3. Виявлено статистично значиму різницю ($P < 0,05$) щодо відсотку мертвонароджень, (3,0%) у матерів, які народили дитину з природженою вадою розвитку порівняно із жінками контрольної групи (0,31%) відповідно.

4. Порівнюючи особливості перебігу вагітності, не виявлено статистично значимої різниці щодо анемії, гестозу першої та другої половини вагітності, імунного конфлікту між матір'ю і плодом, рентгенорадіологічного обстеження, ультразвукового дослідження, фізичної та психічної травми, ускладнених та патологічних пологів у жінок групи ПВР в порівнянні з контрольною ($P > 0,05$). Ризик народження дитини з ПВР при анемії у матері складає 1,0 при довірчому інтервалі (0,32; 2,51). Ризик народження дитини із ПВР при гестозі першої половини вагітності становить 1,0 при довірчому інтервалі (0,42; 2,53). Ризик народження дитини із ПВР при гестозі другої половини вагітності становить 1,0 при довірчому інтервалі (0,54; 2,62).

5. Не виявлено статистично значимої різниці щодо генетичного анамнезу матері та близьких родичів, перебування на обліку в жіночій консультації матерів, які народили дитину з вродженою аномалією у порівнянні з контрольною групою ($P>0,05$).

Література

1. *Запорожан В. М., Руденко І. В.* Природжені вади розвитку з позицій епігенетики // ПАГ. — 2009. — № 1. — С. 92–96.
2. Проблемы реабилитации детей-инвалидов в Российской Федерации (по данным федерального регистра)/Балева Л. С., Кобринский Б. А., Лаврентьева Е. Б. и др. // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2011. — № 32. — С. 5–12.
3. *Новиков П. В.* Достижение генетики в решении новых проблем педиатрии // Российский вестник перинатологии и педиатрии. — 2010. — № 1. — С. 6–11.
4. Результаты пренатального скрининга хромосомной патологии в Москве / Курцер М. А., Гнетецкая В. А., Митькин В. В. и др. // Акушерство и гинекология. — 2010. — № 3. — С. 32–35.
5. *Шевченко Е. А., Марченко Н. П.* Пренатальная диагностика хромосомной патологии в Красноярске: 2000–2010 гг. // Пренатальная диагностика. — 2011. — № 2. — С. 109–117.

Резюме

Проведен анализ пренатальных факторов риска у женщин, родивших детей с врожденными пороками развития в г. Львове и Львовской области за 2002–2011 гг. Виявлено статистически значимую разницу ($P<0,05$) по мертворождениях (3,0%) у матерей исследуемой группы сравнительно с женщинами контрольной группы (0,31%).

Проведено аналіз пренатальних факторів ризику у жінок, які народили дітей із природженими вадами розвитку у м. Львові та Львівській області за 2002–2011 рр. Виявлено статистично вірогідну різницю ($P<0,05$) по мертвонародженнях (3,0%) у матерів досліджуваної групи порівняно із жінками контрольної групи (0,31%).

The analysis of prenatal risks factors among womens, which gave birth to newborns with congenital malformations in Lviv and Lviv district during 2002–2011 was carried out. The statistically significant increase ($P<0,05$) in stillborns (3,0%) among mothers of examined group comparatively to control group (0,31%) was revealed.

ГОНТАРЬ Ю. В., ЧАПЛЯ О. В., ИЛЬИН И. Е.

ООО «Институт генетики репродукции»

Украина, 03057, г. Киев, ул. Зоологическая 3 Д, e-mail: genetics-J@ya.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА СПЕРМАТОЗОИДОВ ПАЦИЕНТОВ, ВСТУПАЮЩИХ В ПРОГРАММУ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (ВРТ) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ (ПГД)

С бурным развитием вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) и диагностических методик все чаще уделяется внимание мужскому фактору в бесплодных парах. В последние годы лечение мужского беспло-

дия характеризуется значительным прогрессом, связанным, главным образом, с внедрением в широкую медицинскую практику метода интрацитоплазматической инъекции сперматозоида (ИКСИ). Этот передовой подход позволяет иметь потомство мужчинам с тяжелыми формами олиго-, астено-, терато- и даже азооспермии, ранее обреченных на абсолютное бесплодие.

Оценка состояния сперматогенеза имеет важное диагностическое значение при различных формах нарушения репродуктивной функции. С этой целью разработан ряд методов, основанных на исследовании морфологии и состава по стадиям развития половых клеток. Традиционный спермиологический анализ является начальным звеном в цепи лабораторных исследований и позволяет судить о количестве сперматозоидов, их подвижности, жизнеспособности и морфологии. Однако данный метод не дает полной картины состояния каждой из стадий гаметогенеза [1]. В большинстве клиник репродуктивной медицины Украины используются вышеуказанные классические тесты для изучения характеристик эякулята, которые не всегда отображают реальную информацию о его качестве.

При включении пациентов в программы ВРТ не стоит забывать, что возникновение патологических состояний репродуктивной системы часто обусловлено хромосомными, генными мутациями, нестабильностью генетического аппарата, и наличием наследственной предрасположенности к заболеванию. Генетические отклонения у родителей, приводящие к нарушению репродукции и невозможности зачатия ребенка естественным путем, при применении программ ВРТ могут передаваться будущему потомству. Некоторые исследователи считают, что в программе ИКСИ возникают хромосомные мутации *de novo* и встречаются значительно чаще, чем в популяции. Таким образом, пациенты с тяжелыми формами бесплодия, нуждающиеся в лечении методами ВРТ, также с использованием преимплантационной генетической диагностики (ПГД), требуют к себе повышенного генетического внимания, так как главная задача ВРТ — получение здорового потомства [2].

Наряду со стандартной спермограммой появились такие анализы, как фрагментация ДНК сперматозоидов, определение количества анеуплоидий в сперматозоидах методом флюоресцентной гибридизации *in situ* (FISH), оценка зрелости сперматозоидов во всем объеме эякулята.

Высокие уровни фрагментации ДНК сперматозоидов (30 % и больше) могут приводить к нарушению оплодотворения [3], быть причиной низкого качества эмбрионов [4] и обуславливать неудачные повторные попытки ВРТ даже с использованием ПГД [5, 6, 7].

Результаты молекулярно-цитогенетического анализа половых клеток у пациентов с нормальным и аномальным кариотипом и нарушением сперматогенеза подтверждают точку зрения на возможность выявления в гаметах, в первую очередь — в сперматозоидах и сперматидях, определен-

ной доли хромосомных анеуплоидий. Последние могут явиться причиной нарушения сперматогенеза. Некоторые из таких сперматозоидов участвуют в оплодотворении и могут являться причиной формирования эмбриона с численным нарушением кариотипа [8].

В связи с этим появилась необходимость разработки схемы исследования сперматозоидов для получения не только количественных, но и качественных показателей.

Материалы и методы

Сбор первичной информации проводился на базе цитогенетической лаборатории клиники «Институт генетики репродукции» (директор — к.мед. н. И. Е. Ильин) в период с 2011 по февраль 2012 гг. Обработаны данные о 57 мужчинах, которым назначалось комплексное исследование эякулята. Уровень фрагментации ДНК сперматозоидов проводился методом SCD (Sperm Chromatin Dispersion test).

После сдачи пациентом эякулята проводилась его количественная оценка, подсчитывалась общая концентрация, число подвижных сперматозоидов. Далее эякулят разводился фосфатным буфером до определенной концентрации и помещался в 0,1 % раствор агарозы. Затем суспензия наносилась на предметное стекло, сверху накладывалось покровное стекло, препарат оставлялся на 5 минут в холодильнике при +4 °С. По истечении указанного времени покровное стекло удалялось и препарат последовательно помещался в денатурирующий кислотный раствор, далее — в лизирующий раствор, затем водой смывались остатки реагентов, а спиртами ускорялось просушивание препарата. После высыхания стекло окрашивалось по Романовскому — Гимзе. Проводился подсчет 500 клеток, при котором оценивался размер ореола вокруг головы сперматозоида. Нефрагментированная ДНК отображалась в виде большого ореола, тогда как сперматозоиды с фрагментированной ДНК имели небольшой ореол или же полное его отсутствие (рис. 1)

Также пациентам с нарушением сперматогенеза проводилось молекулярно-цитогенетическое исследование методом *FISH* на сперматозоидах с предварительной их декондесацией. С целью определения уровня анеуплоидий сперматозоидов использовали многоцветную пробу AneuVysion для хромосом X, Y, 18, 13, 21 (Abbott-Vysis, USA).

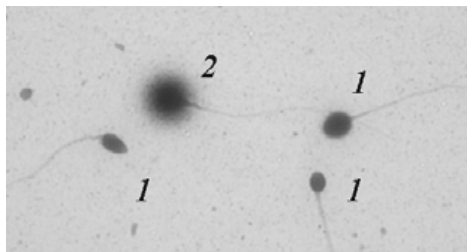


Рис. 1. Фрагментация ДНК сперматозоидов:

1 — сперматозоид с фрагментацией ДНК; 2 — сперматозоид без фрагментации ДНК

Подготовка препаратов производилась после сдачи пациентом эякулята. Необходимый объем спермы помещался в пробирку и трижды отмывался фосфатным буфером, после чего раскапывался на стекла и сушился 1 час при температуре +50 °С. Затем стекла опускались в емкость с фиксатором и оставались на 18 часов при температуре –20 °С. По прошествии указанного времени проводилась деконденсация путем инкубации в 0,1N растворе гидроксида натрия, после чего стекла споласкивались в фосфатном буфере и просушивались на воздухе. Далее проводилась предгибридизационная подготовка препарата и наносились пробы CEP 18/X/Y и LSI 13/21 на предварительно отмеченные зоны гибридизации. Стекло с нанесенными зондами помещалось в гибридизатор с установленной программой денатурации и гибридизации при +37 °С длительностью от 4 до 12 часов. Затем для удаления негибридизовавшихся проб, а также с целью уменьшения кросс-гибридизации альфойдных последовательностей с центромерными участками других хромосом, стекла подвергались отмывке. Далее препараты окрашивались и проводилась детекция флуоресцентных сигналов согласно стандартному протоколу. Микроскопический анализ осуществлялся с использованием флуоресцентного микроскопа, оборудованного соответствующим набором фильтров и программой автоматической обработки изображения, в данном случае программа ISIS. Для исследования уровня анеуплоидий в сперматозоидах проводился анализ 1000 клеток. [9].

Результаты исследования и их обсуждение

Исследование строилось на данных 57 пациентов, которым проводилось комплексное исследование эякулята. Среди обследуемой группы у 28% пациентов уровень фрагментации ДНК превышал норму, которая составляет 30% от общего количества анализируемых сперматозоидов. При этом самый низкий показатель (4,8%) и самый высокий уровень (58,8%) фрагментации был определен в возрастной группе от 31 до 35 лет, хотя среднее значение фрагментации было самым низким для указанной группы среди остальных исследуемых возрастов, что указано в Таблице 1.

Таблица 1

Вариабельность показателя фрагментации ДНК сперматозоидов среди возрастных групп пациентов

Возрастная группа	Самый низкий показатель, %	Самый высокий показатель, %	Средний уровень фрагментации в группе, %
от 20 до 30 лет	11,5	43	22,1±0,94
от 31 до 35 лет	4,8	58,8	21,8±0,14
от 36 до 40 лет	5,8	48,2	23,4±1,17
от 41 и старше	8,0	58	24,2±1,4

Также было установлено, что у 83% пациентов с повышенной степенью фрагментации ДНК сперматозоидов определялось пониженное количество подвижных сперматозоидов, при чем показатель подвижности варьировал от 0,2% до 19%.

По данным молекулярно-цитогенетического анализа методом FISH уровень анеуплоидий в сперматозоидах был в диапазоне от 2,5 % до 24,0 %, тогда как в норме процент нерасхождений хромосом не должен превышать 2,5 % [10]. При анализе сперматозоидов встречались такие варианты анеуплоидий как наличие двух половых хромосом (XX, YY, XY) или же нулисомия по половым хромосомам, наличие нескольких половых хромосом и аутосом (XXY 1818, XX 1818, XY 1818, XYY 1818), нулисомия по аутосомным хромосомам (X₋, Y₋, 13₋, 21₋), присутствие нескольких аутосом (131321, 132121, 13132121).

Таблица 2

Вариабельность показателя анеуплоидий сперматозоидов и достоверность его отличия от нормы

Исследованные хромосомы	Вариабельность, %		Среднее значение нерасхождений, %	Норма, %	$\chi^2_{\text{факт}}$	$\chi^2_{\text{табл.}}$ p=0,001
	самый низкий показатель	самый высокий показатель				
X/Y	1,2	7,6	3,9±0,28	0,5	778,28	43,82
13	0,5	7,6	3,5±0,23	0,5	559,98	
18	0,4	8,2	3,6±0,20	0,5	550,38	
21	0	8,7	3,1±0,18	0,5	391,76	
Общее количество анеуплоидий (13,18, 21, X/Y)	2,5	24,0	14,2±0,62	2,5	93,28	

В среднем уровни нерасхождения по отдельным исследованным хромосомам и общему количеству анеуплоидий статистически значимо отличались от нормы, что демонстрирует таблица 2.

Выводы

Генетическое обследование пациентов с нарушением репродуктивной функции приобретает определенное значение ввиду выявления у них высокой частоты генетических отклонений. С целью выявления данных аномалий рекомендуется проводить комплекс представленных обследований, которые являются необходимым этапом в подготовке к программе ВРТ+ПГД, в чем клиника «Институт генетики репродукции» выступает новатором.

Все сказанное подводит к востребованности разработки и широкого внедрения в медицинскую практику профилактических мероприятий, в частности преимплантационной генетической диагностики, которая проводится в рамках программы экстракорпорального оплодотворения и дает возможность генетической селекции эмбрионов у пациентов с генетическими нарушениями.

Литература

1. *Tesarik J., Mendoza C., Greco E.* Paternal effects acting during the first cell cycle of human preimplantation development after ICSI. *Hum Reprod* 2002; 17: 184–189.
2. *Глинкина Ж. И.* Комплексное генетическое обследование мужчин: программа ИКСИ // Гинекология. — М. — Том 8/№. — 2006. — С. 28–30.

3. Muriel L., Garrido N., Fernandez J. L., Remohi J., Pellicer A. Value of the sperm deoxyribonucleic acid fragmentation level, as measured by the sperm chromatin dispersion test, in the outcome of *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection // *Fertil Steril.* — 2006. — Vol. 85. — P. 371–383.

4. Velez de la Calle J. F., Muller A., Walschaerts M., Clavere J. L., Jimenez C., Wittemer C. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as assessed by the sperm chromatin dispersion testing assisted reproductive technology programs: results of a large prospective multicenter study // *Fertil Steril.* — 2008. — Vol. 90. — P. 1792–1799.

5. Henkel R., Hajimohammad M., Stalf T., Hoogendijk C. Influence of deoxyribonucleic acid damage on fertilization and pregnancy // *Fertility Sterility.* — 2004. — Vol. 81. — P. 965–972.

6. Sakkas D., Darcy Y., Percical G., Sinclair L. Use of the egg-share model to investigate the paternal influence on fertilization and embryo development after *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection // *Fertil Steril.* — 2004. — Vol. 82. — P. 74–79.

7. Virro M. R., Larson-Cook K. L., Evenson D. P. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles // *Fertil Steril.* — 2004. — Vol. 81. — P. 1289–1295.

8. Ворсанова С. В., Юров Ю. Г., Соловьев И. В., Демидова И. А. и др. Современные методы молекулярной цитогенетики в пре- и постнатальной диагностике хромосомной патологии // *Клиническая лабораторная диагностика.* — 2000. — № 8. — С. 36–39.

9. Ворсанова С. В., Юров Ю. Г., Чернышов В. Н., Медицинская цитогенетика // М. — 2006. — С. 219–222.

10. Carrell D. T. The clinical implementation of sperm chromosome aneuploidy testing: pitfalls and promises // *J Androl.* — 2008. — Vol. 29 (2). — P. 124–33.

Резюме

Данное исследование указывает на необходимость комплексного подхода к определению качественных показателей эякулята пациентов при лечении бесплодия с помощью программ ВРТ+ПГД.

Дане дослідження вказує на необхідність комплексного підходу до визначення якісних показників еякуляту пацієнтів при лікуванні безпліддя за допомогою програм ДРТ+ПГД.

This survey indicates the necessity of complex approach to the determination of qualitative ejaculate characteristics for patients undergoing infertility treatment with ART-PGD programs.

КЩЕРА Н. І.¹, ШПАРИК Я. В.², ГЕЛЬНЕР Н. В.¹

¹ Державна установа «Інститут спадкової патології АМН України», м. Львів;
e-mail: nkitsera@gmail.com

² Львівський державний онкологічний регіональний лікувально — діагностичний центр

ЧАСТОТА ВАД СЕРЦЯ В РОДИНАХ ІЗ СІМЕЙНИМ РАКОМ МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ

Останнє десятиріччя характеризується зростанням захворюваності та значним поширенням злоякісних пухлин — мультифакторної патології, яка пов'язана з адитивним впливом на організм агресивних екзо- та ендоген-

них чинників [2, 5, 8]. Клінічна маніфестація злоякісних пухлин може бути спровокована за наявності несприятливих чинників довкілля та відповідної генетичної конституції людини [1, 7]. Злоякісні пухлини займають друге місце серед причин смертності, поступаючись лише серцево-судинним захворюванням.

У той же час серед дитячого населення України однією із домінуючих причин дитячої смертності залишаються вроджені вади серця (ВВС). За даними Міністерства охорони здоров'я, всього на обліку перебуває близько 40 тисяч дітей з вродженою серцево-судинною патологією віком до 14 років. У наш час відомо понад 150 нозологічних одиниць цієї патології. Формування вроджених вад серця відбувається в результаті порушення ембріогенезу на 3–8-му тижні вагітності на фоні спадкової родинної схильності.

У більшості випадків у виникненні вад серця відіграють роль як генетичні, так і зовнішні чинники [3, 4, 6]. У більшості сімей випадки народження дитини із ВВС є спорадичними, проте порушення такого характеру частіше зустрічаються серед родичів або у дітей тих людей, у кого вже є вада серця, ніж у тих сім'ях, де такого захворювання в родині немає. Це наводить на думку, що вади серця мають генетичне походження, особливо в тих сім'ях, де вже є люди з такою хворобою. На сьогодні вчені знайшли більш ніж 100 мутацій у понад 12 генів, які безпосередньо пов'язані з порушенням діяльності серця. Вади серця часто поєднуються із іншими вадами розвитку або є симптомом деяких синдромів. Майже у 10 % дітей з вадами серця спостерігаються хромосомні аномалії.

У літературних джерелах описані випадки поєднання ВВС і злоякісних пухлин у пробандів [2,8], проте в доступній літературі ми не знайшли даних за частоту ВВС в родинах із раком молочної залози. Метою нашої роботи було вивчення спектру і поширеності ВВС в родинах із сімейним раком молочної залози (РМЗ) в популяції Львівської області за 2008–2011 рр.

Матеріали і методи

Проведено клініко-генеалогічні дослідження серед жінок із сімейним РМЗ Львівської області (Україна), які лікувалися в Львівському державному онкологічному регіональному лікувально — діагностичному центрі в період з січня 2008 року по серпень 2011 року з приводу РМЗ. Контрольну групу склали родоводи 80 сімей, які проживають у Львівській області. Для цієї мети була розроблена спеціальна анкета, що складалась із 40 запитань. Кожну особу повідомляли, що дані анкетного опитування не будуть використовувати без подальшої на те її згоди.

Результати і обговорення

Серед 80 пацієнток із РМЗ у кожній хворобі були дані щодо сімейних випадків РМЗ, від одного до 5 випадків, окрім пробанда. У досліджуваній групі 65 (81,3 %) жінок проживали в місті, а 15 (18,7 %) — у сільській місцевості. Вік пацієнток коливався від 29 до 74 років. Середній вік маніфестації хвороби склав $51,2 \pm 5,7$ років.

У 80 (12,5 %) пробандів із РМЗ, які були обтяжені щодо вад серця в родині, дана патологія зустрічалася в 10 випадках — у 6 родичів жіночої статі та 4 родичів чоловічої статі.

Серед родичів I ступеня спорідненості (рідні брати і сестри, тато, мама) дана патологія була діагностована у 4 (40 %) випадках. Серед родичів II ступеня спорідненості (дідусь, бабуса, рідні тітки і дядьки, напівсисби пробанда) вади серця не були виявлені.

Серед родичів III–IV ступеня спорідненості у родичів пробандів із РМЗ вади серця були діагностовані у 6 (60 %) сім'ях.

У контрольній групі ВВС зустрічалися у 4 (5 %) випадках — у однієї родички жіночої статі та 3 родичів чоловічої статі:

- стеноз мітрального клапана мала мати пробанда;
- аневризму аорти мав брат пробанда, від якої помер у віці 26 років;
- від тетради Фалло помер рідний сибс чоловічої статі у віці 17 років;
- від транспозиції судин у віці 1 місяць після оперативного втручання помер рідний племінник.

Щодо статевого розподілу, то в групі з РМЗ родичі жіночої статі із ВВС зустрічалися достовірно частіше ($p < 0,05$), ніж в контролі — 6 та 1 випадок відповідно. Не виявлено достовірної різниці щодо родичів чоловічої статі із ВВС в обох групах ($p > 0,05$) — 4 та 3 випадки відповідно.

У контрольній групі серед трьох родин ВВС діагностувалася у родичів I ступеня спорідненості і в 1 випадку серед родичів II ступеня спорідненості. У контрольній групі ВВС виявлено у 4 (5 %) випадках, а в основній — в 10 (12,5 %) випадках (таблиця 1), що мало достовірну різницю ($p < 0,05$). У контрольній групі ВВС частіше зустрічалися серед родичів I ступеня спорідненості ($p < 0,05$), в той час як в родинах пробандів з РМЗ ВВС найчастіше діагностувалися у родичів III–IV ступеня спорідненості ($p < 0,05$).

Таблиця 1

Випадки природжених вад серця в родинах пробандів із раком молочної залози (основна група) та в контролі

Ступінь спорідненості	Основна група		Контрольна група		p
	n=80	%	n=80	%	
I	4	40 %	3	75 %	$p < 0,05$
II	-	-	-	-	-
III–IV	6	60 %	1	25 %	$p < 0,05$
Всього	10	100 %	4	100 %	

Те, що в контрольній групі ВВС переважають серед родичів I ступеня спорідненості свідчить про спадкову схильність виникнення ВВС. У той же час наявність ВВС серед родичів III–IV ступеня спорідненості в основній групі нашої роботи нас на думку, що в родинах жінок із спадковим раком молочної залози частота ВВС відрізняється від популяційної.

Відмінність частот ВВС серед родичів різного ступеня спорідненості може вказувати на те, що спадковість є етіологічним фактором у виникненні

ні ВВС у контрольній групі, але для пенетрантності мутантних генів необхідний відповідний фактор зовнішнього середовища. В той же час в основній групі етіологічним фактором ВВС є негативний вплив факторів довкілля, проте частота і важкість захворювання суттєво залежить від спадкової схильності.

Обтяженість родоводів щодо онкопатології та ВВС слід враховувати при медико-генетичному консультуванні родини, що може переконливо свідчити про дію шкідливих факторів довкілля. Ймовірно, що існуючі генетичні чинники, взаємодіючи зі зміненими умовами довкілля, викликають підвищену сприйнятливість популяції до МФЗ.

Висновки

1. Родоводи пробандів із раком молочної залози є обтяженими щодо вад серця, що слід враховувати при медико-генетичному консультуванні родин.

2. У сім'ях обтяжених щодо ВВС і злоякісних пухлин, основним етіологічним фактором слід вважати негативний вплив довкілля.

3. У групі з РМЗ родичі жіночої статі із ВВС зустрічалися достовірно частіше ($p < 0,05$), ніж в контролі — 6 та 1 випадок відповідно. Не виявлено достовірної різниці щодо родичів чоловічої статі із ВВС в обох групах ($p > 0,05$) — 4 та 3 випадки відповідно.

4. Переважає закономірність, що ВВС у родичів III–IV ступеня спорідненості в основній групі зустрічається частіше, ніж в контрольній групі. Це можна пояснити полігенною природою онкопатології та ВВС, а генетична компонента переважає в контрольній групі.

Відмінність у наявності ВВС у родичів різного ступеня спорідненості може вказувати на спадкову схильність у сім'ях контрольної групи з ВВС та переважання середовищної компоненти у родинах із раком молочної залози, та говорити про полігенний характер захворювань злоякісними пухлинами та ВВС.

Література

1. *Каменецький А.В.* Генетологічна складова онкозахворюваності та структура вроджених вад серця у пробандів // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики. Збірник праць. — 2010. — Випуск 19. — С. 188–194.

2. *Майданник В.Г.* Педіатрія. — Харків: Фолио, 2002. — С. 162–178.

3. *Сорокман Т.В., Ластівка І.В., Підвисоцька Н.І.* Клініко-епідеміологічне дослідження уроджених вад серця і судин у дітей // Буковинський медичний вісник. — 2010. — Т. 14, № 2. — С. 90–92.

4. *Сухарева Г.Э.* Врожденные пороки сердца у детей с генными синдромами // Здоровье ребенка. — 2008. — № 4. — С. 22–30.

5. *Фальковский Г.Э., Крупяно С.М.* Сердце ребенка. Книга для родителей о врожденных пороках сердца (2-е издание) / Москва, Издательство «Никея», 2011. — 228 с.

6. Шарыкин А. С. Врожденные пороки сердца: Руководство для педиатров, кардиологов, неонатологов. — М.: Теремок, 2005. — 384 с.

7. Breast cancer risk and common single nucleotide polymorphisms in homologous recombination DNA repair pathway genes XRCC2, XRCC3, NBS1 and RAD51. / S.N. Silva, M. Tomar, C. Paulo et al // Cancer Epidemiol. — 2010. — V. 34, № 1. — P. 85–92.

8. McKusick V.A. Mendelian Inheritance in Man (10th ed.). Baltimore, MD: Johns Hopkins University Press, 1998.

Резюме

Серед 80 жінок із сімейним раком молочної залози (РМЗ) в родинах виявлено 10 (12,5%) випадків ВВС, що мало достовірну різницю ($p < 0,05$) в порівнянні із контролем-4 (5%) випадки. Відмінність у наявності ВВС у родичів різного ступеня спорідненості може вказувати на спадкову схильність у сім'ях контрольної групи з ВВС та переважання середовищної компоненти у родинах із РМЗ. Родоводи пробандів із РМЗ є обтяженими щодо вад серця, що слід враховувати при медико-генетичному консультуванні родин.

Среди 80 женщин с семейным раком молочной железы (РМЖ) в семьях выявлено 10 (12,5%) случаев врожденных пороков сердца (ВПС), имело достоверную разницу ($p < 0,05$) по сравнению с контролем-4 (5%) случая. Отличие в наличии ВПС у родственников разной степени родства может указывать на наследственную предрасположенность в семьях контрольной группы с ВПС и преобладание средовой компоненты в семьях с РМЖ. Родословные пробандов с РМЖ являются обтяженными по поводу пороков сердца, что следует учитывать при медико-генетическом консультировании семей.

Among 80 women with a family breast cancer in families diagnosed 10 (12.5%) cases of the heart birth defect, which had significant differences ($p < 0.05$) compared with control-4 (5%) cases. The difference in the presence of the heart birth defect in relatives of degrees of relationship may indicate a genetic predisposition in families control group and the predominance of environmental components in families with breast cancer. Genealogies siblings with breast cancer are burdened on heart defects that should be considered when medical and genetic counseling of families.

**КУШНІРУК В. О., КОЧУБЕЙ Т. П., МАЦЕВИЧ Л. Л., РУБАН Т. П.,
ЛУКАШ Л. Л.**

*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Київ, 03143,
вул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: kushniruk_v_o@ukr.net*

ДОСЛІДЖЕННЯ КАРІОТИПУ НОВОЇ ЛІНІЇ КЛІТИН ЛЮДИНИ 4BL6 ПРИ ТРИВАЛОМУ КУЛЬТИВУВАННІ *IN VITRO*

Клітинні лінії різного походження активно використовуються у фундаментальних дослідженнях, для цілей клітинної терапії, промислової біотехнології, розробки та тестування лікарських препаратів, в експериментальній онкології тощо [1]. Адаптація клітин до культивування в умовах *in vitro* супроводжується суттєвими змінами цілого ряду характеристик, внаслідок чого культивовані клітини за фізіологічними та біохімічними показника-

ми можуть значно відрізнятися від клітин *in vivo*. Також було показано, що в багатьох постійних лініях відбуваються генетичні та епігенетичні зміни [2]. Це вимагає постійного моніторингу клітинних ліній на предмет змін каріотипу та прогнозування напрямку каріотипічної еволюції клітин. Значна кількість встановлених ліній клітин людини мають пухлинне походження, є злоякісними [3] і характеризуються значними змінами каріотипу і порушеннями регуляції роботи мітотичного апарату [4]. Незначна частина постійних ліній клітин людини є умовно нормальними, і всі вони отримані або з тканин ембріонального походження, [5] або їхня іморталізація здійснювалася шляхом вірусної трансформації [6]. Тому оригінальна клітинна лінія 4BL6, отримана із периферійної крові здорового донора у відділі генетики людини, викликає особливий інтерес [7]. Клітинна лінія 4BL6 успішно пройшла ліміт Хейфліка та культивується вже понад 220 пасажів. За час культивування не помічали ознак клітинного старіння, кризи та зміни морфології, що дає підстави вважати її потенційно іморталізованою.

Матеріали і методи

Як базове культуральне середовище використовувалося середовище DMEM («Sigma», США) із додаванням 100 ОД/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину, та 10% ембріональної сироватки теляти.

Суспензію первинних клітин, отриманих з донорського матеріалу, переносили на фідер із фібробластів людини, які були мітотично інактивовані за допомогою мітоміцину C в концентрації 10–20 мкг/мл, та культивували з доданням цитокінів LIF, SCF і IL-3 по 2 нг/мл кожного і 30% середовища, кондиційованого ембріональними гермінативними клітинами людини. Після утворення клонів відбирали такі, що швидко росли, та переносили їх в умови стандартної моношарової культури з додаванням цитокінів і кондиційованого середовища [7]. Згодом культивування здійснювали на стандартному живильному середовищі [1].

Каріотипування проводили на 122, 133, 196, 206 та 221 пасажі. Для отримання препаратів хромосом використовували модифікацію стандартного цитогенетичного метода [8, 9]. Фіксацію хромосом проводили через 24 години після посіву клітин. Колхіцин додавали у культуральне середовище із розрахунку 0,05–0,5 мкг/мл та інкубували 1,5–2 години при 37°C. Зняття клітин з субстрату та отримання клітинної суспензії здійснювали шляхом інкубації протягом 5–10 хв при 37°C у розчині трипсин-версену. Для руйнування клітин їх інкубували протягом 30 хв при 37°C у теплому гіпотонічному розчині KCl (0,56%) із розрахунку 1 мл клітинної суспензії до 9 мл гіпотонічного розчину (1:9). Фіксацію хромосом проводили три — чотири рази по 10–20 хв у свіжоприготованому охолоджену фіксаторі (метанол: крижана оцтова кислота, 3:1). Отримані препарати хромосом забарвлювали протягом 40 хв у 20%-му розчині барвника Гімза («Merck», Німеччина). Аналіз метафазних пластинок здійснювали за допомогою мікроскопа Jenaval («Carl Zeiss», Jena), збільшення x400 та x1000.

Результати та обговорення

У результаті проведених цитогенетичних досліджень було виявлено домінування анеуплоїдних клітин у популяції клітин людини лінії 4BL6 порівняно із нормальними диплоїдними клітинами людини, а також значна варіабельність кількості хромосом у клітинах. Отримані дані наведені в таблицях 1 та 2. Клітинній лінії 4BL6 притаманне значне домінування гіпоплоїдів над гіперплоїдами на всіх досліджуваних пасажах культивування, окрім 221-го, де частота гіпо- та гіперплоїдів приблизно однакова. Найбільшу кількість гіпоплоїдних клітин спостерігали на 133-му та 122-му пасажах: $98 \pm 1,41$ та $97 \pm 1,71$ відповідно, а найменшу на 221 пасажі — $47,52 \pm 4,99$.

Розподіл частот окремих каріотипів наведено в табл. 2 та 3.

Таблиця 1

Розподіл клітин за плоідністю каріотипу

Пасаж	122	133	196	206	221
Вибірка	100	100	103	78	101
Гіпоплоїди	$97 \pm 1,71$	$98 \pm 1,41$	$89,32 \pm 3,06$	$92,31 \pm 3,04$	$47,52 \pm 4,99$
46 хромосом	1 ± 1	0	0	0	$3,96 \pm 1,95$
Гіперплоїди	$2 \pm 1,41$	$2 \pm 1,41$	$10,68 \pm 3,06$	$7,69 \pm 3,04$	$48,51 \pm 5$

Таблиця 2

Розподіл частот каріотипів за класами на різних стадіях становлення лінії

Класи частот											
Пасаж	1–10	11–20	21–30	31–40	41–50	51–60	61–70	71–80	81–90	91–100	100–110
122	4	12	14	36	32	1	0	1	0	0	
196	3	8	7	40	34	1	5	2	3	0	
206	1	4	6	35	26	1	1	1	0	2	
221	0	1	2	18	36	8	15	12	3	0	2
Класи частот											
Пасаж	1–5	6–10	11–15	16–20	21–25	26–30	31–35	36–40	41–45		
133	0	3	10	11	3	16	12	17	26		

Таблиця 3

Розподіл частот каріотипів за плоідністю на різних стадіях становлення лінії

Пасаж	122	133	196	206	221
Плоідність					
$\approx n$	$36 \pm 4,82$	$54 \pm 5,01$	$26,21 \pm 4,35$	$25,64 \pm 4,98$	$6,93 \pm 2,54$
$\approx 2n$	$63 \pm 4,82$	$44 \pm 4,9$	$66,67 \pm 5,37$	$66,67 \pm 5,37$	$51,49 \pm 5$
$\approx 3n$	1 ± 1	-	$6,80 \pm 2,49$	$3,85 \pm 2,19$	$32,67 \pm 4,69$
$\approx 4n$	-	-	$2,91 \pm 1,66$	$2,56 \pm 1,80$	$5,94 \pm 2,36$
$\approx 5n$	-	-	-	-	$1,98 \pm 1,39$
$\approx 6n$	-	1 ± 1	-	-	$0,99 \pm 0,99$
$\approx 12n$	-	1 ± 1	-	-	-
$\approx 16n$	-	-	-	$1,28 \pm 1,28$	-

Порівняння розподілу частот каріотипів клітинних культур, що знаходилися на 122, 133, 196 та 206 пасажах за критерієм χ^2 не підтвердило існу-

вання відмінностей між ними; проте на 221 пасажі була виявлена вірогідна відмінність цього показника порівняно з культурами, що знаходилися на більш ранніх стадіях становлення ($p \leq 0,01$).

З іншого боку, можна виділити певні тенденції, що прослідковуються в процесі становлення даної клітинної лінії. Так, на всіх досліджуваних пасажах виявлявся значний пул білядиплоїдних клітин. Проте найменшим цей показник виявився на 133 пасажі.

Ми спостерігали характерну і найвищу частку білягаплоїдних клітин $54 \pm 5,01$ при аналізі препаратів хромосом також саме на 133-му пасажі. Однією з можливих версій значного зростання частки білягаплоїдних клітин є атипичний мітоз з утворенням багатополюсного веретена поділу. Причиною такого мітозу часто буває порушення роботи регуляції мітотичного апарату, в тому числі й репаративних систем. За раніше отриманими даними в нашій лабораторії на цьому ж пасажі спостерігалось також значне пригнічення експресії репаративного ферменту MGMT. Таким чином, можна зробити припущення про наявність на цьому етапі становлення клітинної лінії системних порушень механізмів, що відповідають за стабільність генетичного апарату клітини.

Клітини з високоплоїдними хромосомними наборами в популяціях досліджуваної клітинної лінії майже не спостерігалися.

Слід зауважити, що коефіцієнт варіації для частоти каріотипів також змінюється в процесі становлення клітинної лінії. Характер цих змін представлений на рис. 1.

Як видно на представленому рисунку, варіабельність за цією ознакою має виражений двохвиловий характер, із тенденцією до першого зниження варіабельності на 133 пасажі та повторного зниження цього показника на 221 пасажі.

При цьому тенденції каріотипічної еволюції досліджуваної культури виглядають наступним чином. Спочатку розподіл носить виразно асиметричний характер з переважанням гіпоплоїдних варіантів — але на 196 пасажі з'являється тенденція до виокремлення двох піків: більш виражено-

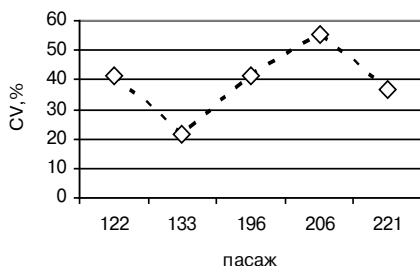


Рис. 1. Коефіцієнт варіації для частоти окремих каріотипів на окремих стадіях становлення клітинної культури

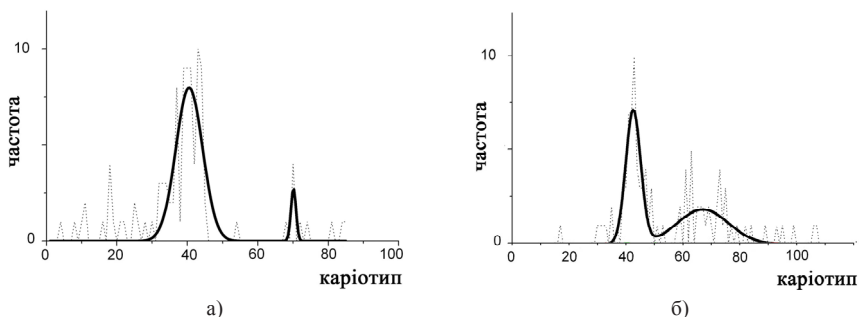


Рис. 2. Розподіл клітин за кількістю хромосом на 196 (а) та 221 (б) пасажі

го — в навколодиплоїдній області; та менш вираженого — в навколотриплоїдній. На 221 пасажі ця тенденція стає ще більш помітною (рис. 2)

Висновки

В процесі тривалого культивування клітинної лінії 4BL6 відбувається каріотипна еволюція, яка має хвилеподібний характер. Внаслідок еволюційних процесів, що мають місце в даній культурі в процесі її становлення, спостерігаються тенденції до формування біядиплоїдного модального класу, та виокремлення незначного пулу біятриплоїдних клітин. Переважання клітин з біядиплоїдним хромосомним набором робить виділену нами культуру клітин 4BL6 перспективною з точки зору застосування в якості модельної системи *in vitro*, а також для застосування в біотехнології. У зв'язку з цим нами розпочаті більш детальні дослідження хромосомних змін, що відбуваються в даній культурі.

Література

1. Freshney R. I. Culture of animal cells: a manual of basic technique and specialized applications, 6th ed. — New Jersey, USA. — 2010. — 796 p.
2. Chung T-L., Nilay Y., Wolvetang T. and E. J. (2011) Genetic and epigenetic instability of human pluripotent stem cells // The Open Stem Cell Journal. — 2011. — Vol. 3. — P. 52–61.
3. Lengauer C., Kinzler K. W., Vogelstein B. Genetic instabilities in human cancers // Nature. — 1998. — Vol. 396, № 6712. — P. 643–649.
4. Janssen A., van der Burg M., Szuhai K., Kops G. J., Medema R. H. Chromosome segregation errors as a cause of DNA damage and structural chromosome aberrations // Science. — 2011. — Vol. 333, № 6051. — P. 1895–1898.
5. Laurent L. S., Ulitsky I., Slavin I., Tran H., Schork A., Harness J. V., Lee S., Barrero M. J., Ku S., Martynova M., Semechkin R., Galat V., Gottesfeld J., Belmonte J. C. I., Murry C., Keirstead H. S., Park H-S., Schmidt U., Laslett A. L., Muller F-J., Nievergelt C. M., Shamir R., Loring J. F. Dynamic Changes in the Copy Number of Pluripotency and Cell Proliferation Genes in Human ESCs and iPSCs during Reprogramming and Time in Culture // Cell Stem Cell. — 2011. — Vol. 8, № 1. — P. 106–118.
6. Kadaja M., Isok-Paas H., Laos T., Ustav E., Ustav M. Mechanism of genomic instability in cells infected with the high-risk human papillomaviruses // PLoS. Pathog. — 2009. — Vol. 4, № 5. — e1000397.

7. Лукаш Л.Л., Яцишина А.П., Кушнирук В.О., Підпала О.В. Репрограммирование соматических клеток взрослого человека *in vitro* // Фактори експериментальної еволюції організмів, т. 11. — К: Логос. — 2011. — С. 493–498.

8. Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.I. et al. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood // Exp. Cell Res. — 1960. — 20, N 3. — P. 613–616.

9. Barch M.J., Knutsen T., Spurbeck J.L. Cytogenetics laboratory manual. — Lippincot — Raven, 1997. — 668 p.

Резюме

Досліджувалась динаміка змін каріотипу клітинної лінії 4BL6 при тривалому культивуванні. Найбільша генетична нестабільність була характерна для клітинних популяцій на 122-му пасажі, а також на 196-му і 206-му, а найменша — на 133-му і 221-му. Це свідчить про хвилеподібний характер каріотипної еволюції клітинної лінії 4BL6.

Исследовалась динамика изменений кариотипа клеточной линии 4BL6 при длительном культивировании. Наибольшая генетическая нестабильность была свойственна клеткам на 122-м пассаже а также на 196-м и 206-м, а наименьшая — на 133-м и 221-м. Это свидетельствует о волнообразном характере кариотипической эволюции клеточной линии 4BL6.

The dynamics of karyotype changes of cell line 4BL6 was investigated during long-term cultivation. The highest level of genetic instability of cells was detected on 122nd passage and also on 196th and 206th, but the least level was detected on 133rd and 221st passages. This shows the waveform karyotype evolution of cell line 4BL6.

ЛЕВЕНЕЦ С. А., НАЧЕТОВА Т. А., КУЛЕШОВА Д. К.

ГУ «Институт охраны здоровья детей и подростков НАМН Украины»,
61153, г. Харьков, проспект 50-летия ВЛКСМ, 52-а, e-mail: iozdp@ukrpost.ua

ОСОБЕННОСТИ ПЕРИНАТАЛЬНОГО И СЕМЕЙНОГО АНАМНЕЗА ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С ВТОРИЧНОЙ АМЕНОРЕЕЙ

Физиологическое течение внутриутробного периода развития является важной предпосылкой формирования здоровья ребенка [1]. Во многом оно зависит от преморбидного фона, на котором развивается беременность, и особенно — от наличия отягощенного акушерско-гинекологического анамнеза будущей матери [2]. Оценке влияния патологических изменений в функционировании репродуктивной системы матери на формирование нарушений менструального цикла (НМЦ) дочери посвящено немало исследований [3–5], однако возможность использования данных перинатального анамнеза и состояния репродуктивной системы матерей для прогнозирования эффективности негормонального лечения вторичной аменореи остается неизученной, несмотря на актуальность проблемы.

Целью работы явилось изучение особенностей перинатального анамнеза и состояния репродуктивной системы матерей девочек-подростков

с вторичной аменореей (ВА) и оценка их влияния на ближайшую эффективность негормонального лечения.

Материалы и методы

Для реализации поставленной цели были изучены перинатальный анамнез 196 девочек-подростков с ВА и состояние репродуктивной системы их матерей. Показатели сравнивались с данными, полученными при проведении популяционного исследования в Харьковской области [6]. Пациентки с ВА были разделены на 3 клинические группы — ВА I (n=89, менструации не чаще 1 раза в 6 месяцев с менархе), ВА II (n=78, наступлению ВА предшествовали другие НМЦ) и ВА III (n=29, до появления ВА был регулярный менструальный цикл).

Всем девочкам проводили динамические кольпоцитологические исследования [7] и УЗИ органов малого таза. Ближайшую эффективность оценивали по повышению эстрогенной насыщенности организма по данным кольпоцитологического исследования, изменениям ультразвуковой картины, свидетельствующим об увеличении размеров матки при наличии ее гипоплазии до лечения, появлению феномена М-эхо, а также по появлению менструации в течении месяца от начала лечения.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью пакета программ Statgraphics. Для оценки достоверности различий результатов исследования использовали критерий углового преобразования Фишера [8].

Результаты и обсуждение

Как показали результаты исследования, у матерей больных с ВА значительно чаще, чем в Харьковской популяции имели место в анамнезе угроза прерывания беременности (21,5 % и 14,5 %, $P_f < 0,05$), низкий вес ребенка (менее 2500 г) при рождении (8,7 % и 3,3 %, $P_f < 0,05$). У матерей пациенток с ВА гипоменструальный синдром (олигоменорея или ВА в анамнезе) регистрировался почти в два раза чаще, чем в популяции (21,5 % и 11,5 %, $P_f < 0,05$), а первичная аменорея — чаще почти в 15 раз (16,8 % и 1,04 %, $P_f < 0,05$).

При ВА I частота угрозы прерывания беременности почти вдвое превышала популяционную (22,2 % и 11,5 % соответственно, $P_f < 0,05$). При ВА II чаще, чем в популяции регистрировались разрешение беременности путем кесарева сечения (19,2 % и 7,3 % соответственно, $P_f < 0,05$) и низкий вес при рождении (10,3 % и 3,3 % соответственно $P_f < 0,05$). Такие показатели, как наличие у матери первичной аменореи (15,8 % и 1,0 %, $P_f < 0,05$), гипоменструального синдрома (22,3 % и 11,5 % $P_f < 0,05$) чаще, чем в популяции встречались у девочек с обоими клиническими вариантами ВА.

У больных с ВА III, то есть в группе, где наступлению ВА предшествовал регулярный цикл, частота неблагоприятных факторов перинатального анамнеза и показатели, характеризующие акушерско-гинекологический анамнез их матерей, не отличались от популяционных данных.

Обращал на себя внимание тот факт, что поздний гестоз чаще регистрировался у пациенток с ВАII, чем с ВАIII (14,2% и 3,4% соответственно, $P < 0,05$), кесарево сечение — чаще у больных с ВАII, чем с ВАI (19,2% и 7,8% соответственно, $P < 0,05$), а самопроизвольный аборт в анамнезе у матерей девочек с ВАI — чаще чем у матерей пациенток с ВАIII (7,9% и 1,3% соответственно, $P < 0,05$).

Анализ ближайшей эффективности негормонального лечения свидетельствовал о том, что у пациенток групп ВАI и ВАII при неэффективном лечении чаще, чем при положительной динамике встречался такой неблагоприятный фактор перинатального анамнеза как поздний гестоз у матери при беременности настоящим ребенком (21,1% и 9,2% соответственно, $P < 0,05$). В свою очередь, при неэффективном лечении у больных с ВАIII чаще, чем при эффективном, имели место асфиксия в родах (33,3% и 10,5% соответственно, $P < 0,05$) и наличие в анамнезе у матери больной олигоменореи или ВА (33,3% и 15,8% соответственно, $P < 0,05$).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют как о важной роли наследственной отягощенности по нарушениям менструальной функции у матери и неблагоприятного течения протекания перинатального периода девочки в возникновении ВА и снижении эффективности негормональной терапии у пациенток с указанными особенностями семейного и перинатального анамнеза.

Литература

1. Гуркин Ю. А. Концепция «перинатального следа в детской гинекологии» // Буквинський вісник. — 2001. — № 2. — С. 56–57.
2. Камилова Н. М. Совершенствование прогнозирования риска перинатальной патологии // Журн. Российского общества акушеров-гинекологов. — 2006. — № 3. — С. 44–45.
3. Кудинова Е. Г. Семейный анамнез в выявлении факторов риска нарушений менструальной функции у девушек-подростков // Современные наукоемкие технологии. — 2007. — № 12. — С. 76–76.
4. Лопатина Т. В., Кохно Н. И. Влияние здоровья женщины на здоровье потомства // Репродуктивное здоровье детей и подростков. — 2006. — № 5. — С. 12–17.
5. Azziz R., Kashar-Miller M. D. Family history as a risk factor for the polycystic ovary // J. Pediatr Endocrinol. Metab. — 2000. — N 15. — P. 1303–1306.
6. Прохоренко Р. І. Прогнозування та профілактика аномалій пологової діяльності у жінок зі сполучено тканинами дисплазіями: автореф. дис... канд. мед. наук. — Х., 2009. — 20 с.
7. Полонская Н. Ю., Юрасова И. В., Егорова О. В. Профилактические осмотры и патологический скрининг шейки матки: учеб. пособие. — М.: Академия, 2008. — 80 с.
8. Гублер Е. В. Вычислительные методики анализа и распознавания патологических процессов. — Л.: Медицина, 1978. — 294 с.

Резюме

Проведено изучение перинатального и семейного анамнеза девочек-подростков с вторичной аменореей. Показано влияние угрозы прерывания беременности

в перинатальном анамнезе, низкого веса пациентки при рождении, наличия первичной аменореи, олигоменореи и вторичной аменореи у матери больной на формирование вторичной аменореи в период пубертата.

Проведено вивчення перинатального і сімейного анамнезу дівчат-підлітків з вторинною аменорей. Показано вплив загрози переривання вагітності в перинатальному анамнезі, низької ваги пацієнтки при народженні, наявності первинної аменореї, олигоменореї і вторинної аменореї у матері хворої на формування вторинної аменореї в період пубертата.

Perinatal and family histories have been studied in adolescent girls with secondary amenorrhea. The presence of primary amenorrhea, oligomenorrhea and secondary amenorrhea in mothers of our patients, as well as imminent abortion in their perinatal history, low birth-weight of the newborn girls caused subsequent formation of secondary amenorrhea in our patients at puberty.

**ЛИХАЧЕВА Л. И., РУБАН Т. А., ШПИЛЕВАЯ С. П., ШУВАЛОВА Н.,
КОРДЮМ В. А., ГУЛЬКО Т. П.**

*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
Украина, 03143 Б Киев, ул. Заболотного, 150*

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА РАЗНЫХ ПАССАЖЕЙ

Перспективным объектом для решения многих проблем клеточной терапии являются мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Возможность получения МСК из взрослого организма решает многие морально-этические проблемы, которые возникали при получении их из других источников. Кроме того, выделение МСК можно проводить и не инвазивно, например, из пуповины новорожденных детей. Такие МСК обладают способностью к самообновлению и дифференцировке в различные мезенхимальные ткани, обладают иммунотолерантностью, и в отличие от эмбриональных стволовых клеток не индуцируют развитие тератом, и др

Тем не менее, накопившийся настоящее время значительный объем экспериментальных данных о природе и поведении клеток, потенциально пригодных для введения в организм после культивирования *in vitro*, свидетельствует о необходимости проведения дополнительных исследований по генетической безопасности клеточных трансплантатов. Длительное культивирование может приводить к отбору и посткризисному выживанию клеточных популяций, обладающих генетической нестабильностью или, даже, опухоленностью при трансплантации *in vivo* (1–3,15). Увеличение числа пассажей приводит к изменению экспрессии многих генов (2–6). Во многих работах указывается на изменения поверхностных маркеров фенотипа МСК, пролиферативного и дифференцировочного потенциалов, ин-

дукции клеточного старения, повышении уровня стресса, хромосомной изменчивости в процессе культивирования клеток (7–14). Особо подчеркивается, что репликативное старение клеток – это длительный процесс, который начинается с первых пассажей, и это явление необходимо принимать во внимание при терапевтическом применении препаратов МСК.

Несмотря на неоднозначность результатов об изменениях, происходящих во взрослых стволовых клетках человека при их экспансии *ex vivo*, практически во всех работах сделан вывод о необходимости строгого контроля за безопасностью клеточных трансплантатов на геномном, хромосомном и генном уровнях. Для проверки безопасности мультиплицированного клеточного материала существует ряд методов, которые позволяют идентифицировать некоторые изменения, произошедшие в клетках при пересевах. Это, в частности, выявление хромосомных aberrаций, транслокаций, делеций и изменение белковых маркеров, расположенных на поверхности клеток и т. д. Однако, в литературе устоялось мнение, что генетические нарушения начинаются уже на первых этапах культивирования и их незначительность на хромосомном уровне не позволяет обнаруживать их при кариотипировании (2, 10, 16, 17), но даже незначительные изменения могут привести и приводят к значительным нарушениям генетической регуляции.

В связи с вышеизложенным, возникает необходимость в разработке способов тестирования клеток на предмет их безопасности и интегральной оценки всех изменений, которые произошли в клетках при их экспонировании вне организма на всех этапах культивирования *ex vivo* для последующего их использования в клеточной терапии.

В организме решение о защите от измененных и опасных клеток принимает иммунная система. Такой же принцип был положен в основу идеи настоящей работы и сводился к тому, чтобы воспроизвести элементы иммунного надзора *in vitro*, что должно приводить к опознанию и удалению измененных, чужих клеток компонентами иммунной системы.

Материалы и методы

МСК были получены из пупочного канатика человека методом трансплантатов (пуповины получены при нормальных родах с согласия рожениц). Из пупочного канатика удалялись сосуды, Вартонов гель измельчался и помещался в пластиковые флаконы емкостью 50 мл (РАА) на питательную среду DMEM с низким содержанием глюкозы, добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, L-глутамина (250 мг/л), 100 ЕД/мл пенициллина («Артериум»), 100 мкг/мл стрептомицина («Артериум»), bFGF (Ре-фибrol). Полученные клетки анализировали на наличие маркеров CD90, CD73, CD105 методом проточной цитофлуориметрии на FACs и подтверждали их принадлежность к мезенхимальному ряду. Клетки культивировали при температуре 37 °C, 80 % влажности и 5 % CO₂. Через 7–21 день наблюдался выход клеток из геля и образование клонов. Культивирование клеток на разных пассажах продолжали на такой же среде. Для снятия кле-

ток использовали 0,025 % раствор трипсина-Версена. Клетки пересевали при достижении 70 % конfluenceности монослоя. Клетки белой крови человека выделяли из крови взрослых доноров, содержащей антикоагулянт (ЭДТА), путем центрифугирования в капиллярах с последующим отмыванием от плазмы и ресуспендированием в среде RPMI. В опытных вариантах клетки белой крови наносили на МСК определенного пассажа в соотношении примерно 10:1 и экспонировали 1 час при 37 °С в термостате с 5 % CO₂ и 80 % влажности. После экспозиции препараты отмывали от свободных клеток белой крови, фиксировали и окрашивали по Романовскому-Гимза. В контрольные варианты клетки белой крови не вносили. Полученные препараты микроскопировали.

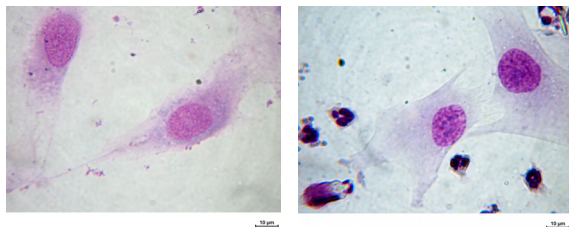
Результаты и обсуждение

При взаимодействии МСК ранних пассажей — 0-й, 1-й — с клетками белой крови происходит незначительное количество контактов клеток и проникновений ядер (в основном лимфоцитов) в цитоплазму МСК. Слияний или разрушений ядер МСК как правило, не происходит и вошедшее ядро клетки белой крови обычно располагается либо на некотором расстоянии от ядра хозяйской клетки, либо свободно в ее цитоплазме. МСК в этих вариантах опытов сохраняют типичную для этих пассажей морфологию. (рис. 1)

Добавление клеток белой крови к МСК 2-го — 4-го пассажей приводит к изменению морфологии культивируемых клеток — они становятся округлыми, по краям появляются многочисленные пузыревидные выпячивания как следствие увеличения проницаемости мембраны и выхода части цитоплазмы за пределы клетки, и последующего разрушения значительного количества клеток. В контрольных вариантах клетки сохраняют типичную для МСК морфологию соответствующих пассажей морфологию (рис. 2).

Таким образом, при изучении взаимодействия культивированных мезенхимальных клеток пуповины человека с иммунокомпетентными клетками периферической крови взрослых доноров нами наблюдалась картина, подобная той, которая была получена в модельной системе мышиных

1-й пассаж



Контроль

Опыт

Рис. 1. Взаимодействие МСК пуповины с клетками периферической крови человека. 1-й пассаж

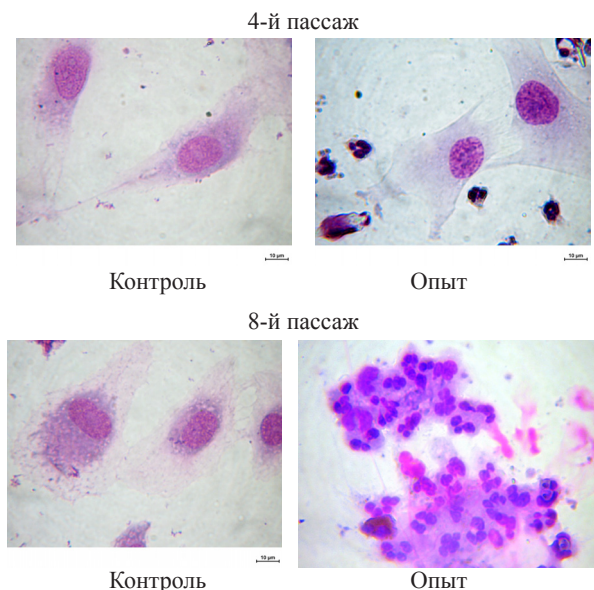


Рис. 2. Взаимодействие МСК пуповины с клетками периферической крови человека. 4-й и 8-й пассажи

фибробластов и аутологичных клеток крови (18). На ранних пассажах мезенхимальные клетки остаются либо совсем не чувствительными, либо малочувствительными к литическому действию клеток-эффекторов, но в ходе культивирования МСК с возрастанием числа пассажей разрушительное действие клеток периферической крови усиливается вплоть до почти полного разрушения клеток-мишеней на поздних пассажах.

Иммунокомпетентные клетки крови играют важную роль в иммунном надзоре за состоянием клеточной пролиферации и цитодифференцировки. Эти клетки осуществляют лизис широкого спектра скомпрометированных клеток-мишеней — опухолевых, инфицированных, мутантных, поврежденных или даже просто чрезмерно пролиферативно активных, а также измененных нормальных, как эмбриональных, так и клеток зрелого организма, ставших чужеродными. При этом обеспечивается антигенный гомеостаз организма и стабильность его клеточного состава.

Тот факт, что нормальные иммунотолерантные на ранних пассажах мезенхимальные клетки пуповины в наших экспериментах по мере увеличения числа пассажей становятся уязвимыми и чувствительными к литическому действию эффекторных клеток периферической крови, говорит о значительных изменениях, происходящих в мезенхимальных клетках в течение культивирования *in vitro*. Так, проверка маркеров принадлежнос-

ти к мезенхимальному ряду клеток, используемых в наших опытах, показала, что начиная уже с 3-го пассажа культивирования изменяется их поверхностный фенотип (19). Кроме того, в этих клетках усиливается оксидативный стресс с увеличением числа пассажей при их экспансии *in vitro* (20).

Выводы

Изучение особенностей взаимодействия клеток периферической крови доноров с мезенхимальными клетками пуповины человека показало, что мезенхимальные клетки ранних пассажей остаются иммунотолерантными и не подвергаются разрушению клетками крови, содержащими иммунокомпетентные клетки. По мере выращивания культуры мезенхимальных клеток, т.е. с увеличением числа пассажей, клетки пуповины становятся все более уязвимыми к действию клеток периферической крови, что выражается в их разрушении клетками крови, которое на поздних пассажах (5–8 пассажи) может привести к лизису практически всех клеток-мишеней.

Литература

1. Rosland G.V., Svendsen A., Torsvik A. et al. Long-term cultures of bone marrow-derived human mesenchymal stem cells frequently undergo spontaneous malignant transformation. — Cancer Res. — 2009. — 69 (13). — P. 5331–5339.
2. W. Wagner, P. Horn, M. Castoldi et al. Replicative Senescence of in Mesenchymal stem cells: A Continuous and Organized Process. — PLoS ONE. — 2008. — 3 (5). — P. 2213.
3. W. Wagner, S. Bork, P. Horn et al. Aging and Replicative Senescence have related effects on human stem and progenitor cells. — PLoS ONE. — 2009. — 4 (6). — e5846.
4. Schallmoser K., C. Bartmann, E. Rohde et al. Replicative senescence-associated gene expression changes in mesenchymal stromal cells are similar under different culture conditions. — Haematologica. — 2010. — 95 (6). — P. 867–874.
5. Will, Malcolm B. Gene expression profiling of mesenchymal stem cells aged *in vitro*. — Glasgow University Theses Repository. — 2010.
6. Y.A. Nikitina, E. Y. Osipova, L.D. Katosova et al. Study of Genetic Stability of Human Bone Marrow Multipotent Mesenchymal Stromal Cells. - Bulletin of Experimental Biology and Medicine. — 2011. — 150 (5). — P. 627–631.
7. A. Stolzinger, E. Jones, D. McGonagle, A. Scutt. Age-related changes in human marrow-derived mesenchymal stem cells: Consequences for cell therapies//Mechanisms of Ageing and Development. — 2008. — 129. — P. 163–173.
8. E. Y. Osipova, T. V. Shamanskaya, O. A. Kurakina et al. Biological Characteristics of Mesenchymal Stem Cells during Ex Vivo Expansion. — British Journal of Medicine & Medical Research. — 2011. — 1 (3). — P. 85–95.
9. Бочков Н.П., Воронина Е.С., Катосова Л.Д. и др. Генетическая безопасность клеточной терапии. — Вестник Российской академии медицинских наук. — 2011. — № 9. — С. 5–10.
10. Григорян А.С., Кругляков П.В., Таминкина Ю.А. и др. Изменения цитологических и кариологических характеристик мезенхимальных стволовых клеток человека при культивировании *in vitro*. — Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2010, № 3. — С. 141–146.

11. K. Tarte, J. Gaillard, J-J. Lataillade et al. Clinical-grade production of human mesenchymal stromal cells: occurrence of aneuploidy without transformation. — Blood. — 2010. — 115. — P. 1549–1553.

12. Sawada R., Matsuoka A., Matsuda Y., Tsuchiya T. Change in characteristics of human mesenchymal stem cells during the in vitro culture — c-myc gene expression and chromosome aberrations at the c-myc locus. — Yakugaku Zasshi. — 2008. — 128 (12). — P. 1851–1856.

13. Izadpanah R., Kaushal D., Kriedt C. et al. Long-term in vitro expansion alters the biology of adult Mesenchymal stem cells. — Cancer Res. — 2008. — 68 (11). — P. 4229–4238.

14. Tao-Sheng Li, Ke Cheng, K. Malliaras et al. Expansion of human cardiac stem cells in physiological oxygen improves cell production efficiency and potency for myocardial repair. — Cardiovasc. Res. — 2011. — 89 (1). — P. 157–165.

15. U. Magdolen, M. Schmitt, B. Hildebrandt et al. Spontaneous in vitro Transformation of Primary Human Osteoblast-like Cells. — Cancer Genomics Proteomics. — 2010. — 7 (2). — P. 61–62.

16. Сухих Г. Т., Павлова Г. В., Рысков А. П. и др. Способ контроля за генетической изменчивостью в культуре животных клеток различной длительности пассирования. — Патент RU 2392330. — 2010.

17. Свинаярева Д. А., Шинунова И. Н., Ольшанская Ю. В. и др. Основные свойства мезенхимных стромальных клеток из костного мозга доноров: поверхностные маркеры. — Терапевтический архив. — 2010. — № 7. — С. 52.

18. Лихачева Л. И., Гулько Т. П., Рубан Т. А., Кордюм В. А. Влияние культивирования мышинных фибробластов на их взаимодействие с клетками периферической крови. — Фактори експериментальної еволюції організмів. Збірник наукових праць. — 2011. — К., Логос. — Т. 11. — С. 336–340.

19. Deryabina O., Maslova O., Sukhorada O. et al. Diversity of umbilical cord MSC and their variability during passaging ex vivo // Abstracts of the World Conference on Regenerative Medicine. November 2–4, 2011, Leipzig, Germany. — Regenerative Medicine. — V.6, N 6. — Suppl. 2. — P. 196.

20. Maslova O. Evaluation of morphophysiological characteristics of MSC as the criteria of usage in regenerative medicine. — Int. Life Science student A. Stolzing, E. Jones, D. McGonagle, A. Scutt. Age-related changes in human marrow-derived mesenchymal stem cells: Consequences for cell therapies // Mechanisms of Ageing and Development. — 2008. — 129. — P. 163–173.

Резюме

Взаимодействия клеток периферической крови доноров с МСК пуповины человека показало, что мезенхимальные клетки ранних пассажей остаются иммуно-толерантными и не подвергаются разрушению клетками крови, содержащими иммунокомпетентные клетки. На 5–8 пассажах это взаимодействие приводит к практически полной гибели МСК.

Взаємодії клітин периферичної крові донорів з МСК пуповини людини показало, що мезенхімальні клітини ранніх пасажів залишаються імунотолерантними і не піддаються руйнуванню клітинами крові, що містять імунотолерантні клітини. На 5–8 пасажів ця взаємодія призводить до практично повної загибелі МСК.

Interactions of peripheral blood cells from donor umbilical cord MSCs man showed that mesenchymal cells of early passages remain immunotolerant and not subject to the destruction of blood cells containing immunocompetent cells. For 5–8 passages, this interaction leads to almost complete loss of MSC.

¹ЛОЗИНСЬКА М.Р., ²ПЛАВСЬКІ А., ³ЛОЗИНСЬКИЙ Ю.С.

¹ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», Львів, Україна

²Інститут генетики людини Польської Академії Наук, Познань, Польща

³Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, Україна
Україна, 79000, Львів, вул. Лисенка 31-а, e-mail: maria_lozynska@ukr.net

ВИВЧЕННЯ СПАДКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ТОВСТОЇ КИШКИ З ВИСОКИМ СТУПЕНЕМ ПЕНЕТРАНТНОСТІ ТА РИЗИКОМ ВИНИКНЕННЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКУ

Загальновідомо, що поліпоз, колоректальний рак та запальні захворювання товстої кишки (ЗЗТК) є полігенними. Низькою досліджень встановлено їх генетичну гетерогенність, що дозволило виділити спорадичні, спадкові і сімейні форми, при яких захворювання товстої кишки повторюється хоча б в одного чи більше родичів пробандів I ступеня спорідненості. Крім того, в межах спадкових форм захворювань існують суттєві відмінності, що вимагає строгої класифікації з використанням комплексних клінічних та лабораторних, особливо, молекулярно-генетичних методів дослідження. Спадкові форми захворювань товстої кишки відрізняються від спорадичної не лише за типом успадкування, але й часто за пенетрантністю, позакишковим фенотипом, віком маніфестації, схильністю до виникнення злоякісних новоутворень та іншими ознаками. На сьогодні в Україні не відпрацьовані стандарти діагностики, профілактики та лікування спадкових захворювань товстої кишки (СЗТК). Встановлено, що у виникненні деяких форм поліпозу, запальних захворювань та раку товстої кишки (РТК) беруть участь генетичні механізми. Тому в останні роки ця проблема є предметом вивчення не лише проктологів і онкологів, але й генетиків. Важливим є той факт, при СЗТК переважають випадки патології із автосомно-домінантним типом успадкування. За даними літератури приблизно 25–35 % хворих на РТК мають сімейну, в т.ч. спадкову форму захворювань [1, 2]. Було показано, що РТК займає друге місце за успадкуванням серед інших найбільш розповсюджених видів новоутворень, з генетичним внеском 35 % після раку простати (42 %), що свідчить про провідний внесок спадкових чинників у виникнення РТК [1]. Відмінності між спорадичним і спадковим чи сімейним раком є не зовсім чіткими і недостатньо підтвердженими [2, 3]. На сьогодні дуже складним завданням є точне встановлення внеску спорадичних і спадкових чинників у виникненні РТК, за виключенням синдрому Лінча та сімейного аденоматозного поліпозу (САП). Виникнення САП зумовлюють мутації генів *APC* і *MYH*, а синдрому Лінча — природжені мутації генів, що відносяться до системи репарації неспарених основ [4, 5, 6]. Ці захворювання є високопенетрантними, хоча їх внесок у виникнення РТК в сукупності не перевищує 6 %. Мутації, що відповідають за виникнення спорадичної форми РТК, становлять більшість, мають суттєве значення у виникненні РТК, хоча є низькопенетрантними [1]. Критерії, за якими можна

розрізнити «генетичні» захворювання та спорадичні випадки, що спричинені чинниками навколишнього середовища, є нечіткими. Для розуміння цих відмінностей необхідне глибоке розуміння внеску у виникнення РТК високопенетрантних СЗТК таких як САП та синдрому Лінча.

Метою роботи є дослідити генетичні та клінічні особливості високопенетрантних СЗТК (САП і синдрому Лінча) для прогнозування виникнення РТК та для виявлення групи ризику серед близько споріднених родичів пробандів.

Матеріали й методи

Проведено опрацювання медичних карток 212 пробандів із новоутвореннями товстої кишки протягом 2002–2011 років. Пацієнти були мешканцями 6 різних областей України. У 129 пробандів було діагностовано РТК, у 43 пробандів поєднання РТК з аденоматозними поліпами та у 40 пробандів — лише поліпи. Всі пацієнти проходили лікування на базі проктологічного відділення Львівської обласної клінічної лікарні. Діагноз було встановлено на основі загально-клінічного, ендоскопічного, променевого та лабораторного методів дослідження. З метою встановлення типу успадкування захворювань застосовували генеалогічний аналіз 212 сімей пробандів у 3–4 поколіннях. Вік пробандів становив від 14 до 89 років. Осіб чоловічої і жіночої статі було 106:106. Відбір групи пацієнтів із підозрою на синдром Лінча проводився з урахуванням Амстердамських критеріїв та деяких доповнених принципів діагностики Bethesda.

Молекулярно-генетичне дослідження провели 31 (19 пробандів та 9 родичів) пацієнтам із множинним поліпозом більше 100 та 3 пробандів із множинним поліпозом менше 100. Перед забором крові для молекулярно-генетичних досліджень від кожного пацієнта було отримано інформовану згоду на виконання цього аналізу. Геномну ДНК виділяли з периферійної крові використовуючи метод висолювання. Для визначення мутацій генів *APC* і *MLH1* здійснювали полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР), скринінгові методи пошуку невідомих точкових мутацій: гетеродуплексний аналіз (HD) та аналіз конфірмаційного поліморфізму одониткової ДНК (SSCP). Для отримання характеристики мутацій проводили секвенування продуктів ПЛР. Застовували праймери, що включали індивідуальні екзонсплайсингові сайти [7]. Ампліфіковані фрагменти гена *APC* перевіряли на наявність мутацій із використанням HD аналізу та SSCP. Фрагменти ДНК, що формували гетеродуплекс під час проведення HD чи відмінні варіанти SSCP, підлягали прямому секвенуванню продукту ПЛР із застосуванням секвенатора.

Результати та їх обговорення

На основі запропонованої нами класифікації СЗТК, до яких відносили синдроми спадкового поліпозу, спадковий рак та спадкові запальні захворювання товстої кишки (ЗЗТК), а також генеалогічного аналізу, даних клінічного та лабораторного дослідження, було встановлено характерні

риси цих захворювань. Найважливішими для більшості з них є автосомно-домінантний тип успадкування, наявність позакишкових маркерів хвороби та рання маніфестація симптомів. Крім того, спільною ознакою СЗТК, які об'єднані у класифікації, є високий ризик виникнення онкологічних захворювань, особливо РТК, що значно перевищує загальнопопуляційні частоти. На основі генеалогічного аналізу 172 сімей пробандів із РТК спадкову форму захворювання було виявлено у 54 (31,4%) осіб. У 11 (20,3%) з цих пробандів РТК виник на ґрунті множинного дифузного аденоматозного поліпозу. У 3 (5,6%) пробандів спадковий РТК виник на ґрунті спадкових ЗЗТК. Провели розподіл хворих на спадковий колоректальний рак (за виключенням поєднання зі САП і ЗЗТК) по трьох групах в залежності від відповідності Амстердамським критеріям діагностики (АКД) [8]:

I група — з відповідністю 3-м чи більше критеріям — 4 (2,4%) осіб;

II група — з відповідністю 2-м критеріям — 14 (8,2%) осіб;

III група — з відповідністю хоча б 1-му критерію — 22 (12,9%) осіб.

У 40 пробандів спостерігали відповідність положенням (від 1 до 3) АКД. З них РТК у віці менше 50 (від 29 до 49) років було виявлено у 11 (27,5%) осіб. Лише у 4 сім'ях пробандів із усіх обстежених із спадковою формою РТК спостерігали відповідність АКД та деяким принципам діагностики Bethesda. У родичів цих пробандів I-го та II-го ступенів спорідненості було додатково виявлено крім РТК ще й інші злякисні новоутворення. На основі статистичних розрахунків було встановлено більш ранній вік маніфестації захворювання на РТК у пробандів із підозрою на синдром Лінча порівняно із спорадичною формою захворювання (табл. 1). Для пацієнтів зі спадковою формою новоутворень частими були первинно-множинні злякисні пухлини (ПМЗП) із синхронним чи метакронним їх виявленням. У 9 (22,5%) із групи пробандів із підозрою на синдром Лінча діагностували ПМЗП, що є вдвічі більше, ніж при спорадичній формі захворювання — у 13 (11,0%) (табл. 1). Хоча достовірної різниці за цією ознакою не виявлено порівняно із групою хворих на спорадичну форму РТК, однак спостерігалася тенденція до підвищеної схильності організму пацієнтів до утворення пухлин. У 3 (75,0%) пробандів I групи спостерігали синхронне чи метакронне виникнення РТК.

Таблиця 1

Клінічні особливості пацієнтів із колоректальним раком в залежності від відповідності Амстердамським критеріям діагностики

Досліджувані ознаки	Хворі на РТК		P
	не відповідають АКД (к-ть хворих, %) (n=118)	відповідають 1–3 чи >АКД (к-ть хворих, %) (n1=40)	
Вік маніфестації РТК <50 років	15 (12,7%)	11 (27,5%)	<0,05
Наявність ПМЗП	13 (11,0%)	9 (22,5%)	>0,05

У сім'ях 4 пробандів, які відповідали трьом АКД виявлено 31 осіб із злоякісними новоутвореннями, з них 23 хворіли на РТК, а у 10 осіб спостерігали поєднання РТК із пухлинами іншої локалізації.

На основі аналізу родоводів 83 сімей пробандів із поодинокими і множинними поліпами позитивний сімейний анамнез було встановлено у 27 (33,7%), а у 11 (39,3%) з них кількість поліпів становила > 100. Найбільшу кількість хворих на РТК було виявлено серед пробандів зі спадковою формою захворювання із кількістю поліпів >100, тобто при САП (табл. 2).

Таблиця 2

Співвідношення кількості пацієнтів із колоректальним раком, що розвинувся на основі поодиноких поліпів, множинного поліпозу в залежності від спадкового анамнезу

Групи осіб з різними за успадкуванням новоутвореннями	Кількість осіб із поодинокими поліпами <3 N1=38		Кількість осіб із множинними поліпами >3<100 N2=20		Кількість осіб із множинними поліпами >100 N3=25	
	без РТК	із РТК	без РТК	із РТК	без РТК	із РТК
I — зі спорадичною формою	18 (60,0%)	12 (40,0%)	5 (42,0%)	7 (58,0%)	6 (43,0%)	8 (57,0%)
II — зі спадковою формою: пробанди	5 (63,0%)	3 (38,0%)	4 (50,0%)	4 (50,0%)	4 (36,0%)	7 (64,0%)
родичі						
Разом	23	15+9=24	8	11+14=25	9	15+20=35

Проведено молекулярно-генетичний аналіз 19 пробандам із множинним дифузним поліпозом (>100). Носійство мутацій генів *APC* — САП-асоційований поліпоз, було підтверджено у 4 (21%), а носійство мутацій генів *MYH* — МАП-асоційований поліпоз — у 2 (10,5%) пробандів. Таким чином, з 19 пробандів спадкова форма захворювання була встановлена у 10 осіб, а 6 (60,0%) з них були носіями досліджуваних мутацій. Найбільшу кількість хворих на РТК з ранньою маніфестацією онкозахворювання було знайдено у сім'ї із мутацією, зумовленою заміною в кодоні 674 ТТГ>ТАГ, що викликає передчасну термінацію трансляції і утворення вкороченої функціонально дефектної молекули білка. Семеро з 9 обстежених родичів пробандів були також носіями мутацій. Фенотип групи пацієнтів із множинним поліпозом характеризувався широким спектром позакишкових симптомів, які були додатковими маркерами захворювання у половини пробандів та у групі ризику. Найчастішими позакишковими ознаками хвороби виявилися природжені вади розвитку (ПВР) у 15 (60,0%) пацієнтів і пухлини м'яких тканин у 7 (28,0%). За допомогою класичних методів дослідження у решти хворих не було ідентифіковано найбільш розповсюджених мутацій. У групі пацієнтів із спадковим множинним поліпозом < 100 не було виявлено мутації *MYH* та *BRAF*.

Висновки

1. На основі генеалогічного аналізу пацієнтів із РТК спадкову форму новоутворень було виявлено у 54 (31,4%) пробандів. Відповідність всім АКД і деяким принципам діагностики Bethesda спостерігали у 4 (2,4%) пробандів, у сім'ях яких виявлено 31 осіб із злоякісними новоутвореннями, з них 23 хворіли на РТК.

2. У групі пробандів із підозрою на синдром Лінча було встановлено достовірно менший вік маніфестації раку (менше 50 років) порівняно із спорадичною формою захворювання та відмічено тенденцію до підвищеної схильності організму пацієнтів до утворення ПМЗП порівняно із спорадичною формою захворювання.

3. Найбільшу кількість хворих на РТК було виявлено серед пробандів зі спадковою формою поліпозу (>100), тобто при САП. Найбільшу кількість хворих на РТК з ранньою маніфестацією онкозахворювання було знайдено у сім'ї із мутацією, зумовленою заміною в кодоні 674 TTG>TAG, що викликає передчасну термінацію трансляції і утворення вкороченої функціонально дефектної молекули білка.

4. Відповідність АКД у сім'ях із РТК та наявність характерного позакишкового фенотипу у родичів пробандів із САП повинні бути основою для скерування пацієнтів для поглибленої генетичної діагностики.

Література

1. Chapell A. Genetic predisposition to colorectal cancer. Cancer. — 2004. — Vol. 4. — P. 769–780.
2. Nagy R., Sweet K., Eng C. Highly penetrant hereditary cancer syndrome // Oncogene. — 2004. — Vol. 23, N 38. — P. 6445–6470.
3. Kaz A.M., Brentnall T.A. Genetic testing for colon cancer // Natural Clinical Practice Gastroenterol Hepatol. — 2006. — Vol. 12, N 3. — P. 125–134.
4. Delaini GG, Skříčka T, Colucci G. Intestinal polyps and polyposis. From genetics to treatment and follow up. Italia: Springer-Verlag. — 2009. — 243 p.
5. Pławski A, Krokowicz P, Drews M et al. Mutacje genu APC u polskich chorych z FAP // Proktologia. — 2008. — Vol. 3, N 9. — 291 p.
6. Кузьминов А. М., Карпунин А. И., Сачков И. Ю., Чубаров Ю. Ю., Савельева Т. А. Локализация мутаций в APC-гене и клинический полиморфизм семейного аденоматоза. (Материалы съезда). Киев. — 2011. — С. 140–141.
7. Miyoshi Y, Ando H, Nagase H, et al. Germ-line mutations of the APC gene in 53 familial adenomatous polyposis patients // Proc. Natl. Acad. Sci. 1992. — USA 89. — P. 4452–4456.
8. Douglas JA, Gruber SB, Meister KA, et al. History and molecular genetics of Lynch syndrome in family G. A century later // Am. Med. Assoc. — 2005. — Vol. 294, N 17. — P. 2195–2202.

Резюме

На основі застосування генеалогічного та молекулярно-генетичного аналізу у роботі досліджено внесок високопенетрантних спадкових захворювань товстої кишки — сімейного аденоматозного поліпозу та синдрому Лінча у виникнення колорек-

тального раку та запропоновано рекомендації для скерування осіб групи ризику для поглибленої генетичної діагностики.

На основании использования генеалогического и молекулярно-генетического анализа в работе исследовано вклад высокопенетрантных наследственных заболеваний толстой кишки — семейного аденоматозного полипоза и синдрома Линча у возникновение колоректального рака и предложены рекомендации на проведение углубленной генетической диагностики для особой группы риска.

On the basis of genealogic analysis and molecular genetic investigation the contribution of the high penetrant hereditary diseases of the large bowel to the colorectal cancer occurrence — familial adenomatous polyposis and Lynch syndrome have been appreciated in this study. It was propose the recommendation to conduct of the genetic diagnostics for the persons of the risk group.

МОССЭ И. Б., ГОНЧАР А. Л., ЖУР К. В., КУНДАС Л. А., БЫШНЁВ Н. И.

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27,

e-mail: I. Mosse@jgc.bas-net.by

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗНЫМ ВИДАМ СПОРТА

Каждый человек несет в себе уникальную генетическую информацию и программу для ее реализации. Соответственно, подход к выбору оптимального вида спорта и к построению тренировочного процесса должен быть строго индивидуальным.

Начиная с 2003 г. в мире отмечается рост исследований, направленных на развитие молекулярно-генетического подхода к профилизации спортсменов.

ДНК-тестирование позволяет существенно улучшить отбор и профилизацию спортсменов, поскольку традиционные тесты не всегда могут корректно определить, в каком виде спорта тот или иной человек может достигнуть наилучших результатов.

Цель данной работы — сравнить частоты аллельных вариантов генов, присутствующих в генотипах элитных спортсменов разной специализации для выявления наиболее информативных маркеров предрасположенности к тому или иному виду спорта.

Материалы и методы

Для молекулярно-генетического тестирования нами отобраны образцы ДНК спортсменов национальных команд разных видов спорта — биатлон, хоккей с шайбой, большой теннис, а также ДНК контрольной группы людей, профессионально не занимающихся спортом (150 чел.).

Биологическим материалом для исследования служила ДНК, выделенная из лейкоцитов периферической крови. Проанализированы полиморфные варианты генов HIF1, VEGF, PAI-1, MB и PPARG, кодирующих белки,

непосредственно участвующие в реакции организма на недостаток кислорода. Молекулярно-генетический анализ геномной ДНК спортсменов выполнен методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Аллели полиморфизмов A79G гена MB идентифицировали по наличию или отсутствию сайта рестрикции после обработки продуктов ПЦР соответствующими эндонуклеазами и электрофоретического разделения в полиакриламидном или агарозном гелях. Определение полиморфизмов 4G/5G в гене PAI-1 проводили с помощью автоматического капиллярного электрофореза в генетическом анализаторе ABI PRISM 310. Идентификацию однонуклеотидных замен в генах HIF1A и VEGF выполняли методом ресеквенирования. Анализ полиморфного варианта Pro12Ala гена PPARG проводили с помощью методики, основанной на tetra-prime ARMS ПЦР, с последующим электрофоретическим разделением фрагментов в полиакриламидном геле.

Результаты и обсуждение

Ген HIF1. Недостаток кислорода при высоких физических нагрузках ведет к активации гена HIF1A, который в свою очередь запускает экспрессию гипоксия-зависимых генов — ACE, eNOS, PAI-1, BDKRB2, EPO, VEGF и ENDT-1. В гене HIF1A имеется значимый полиморфизм — 582C/T. По данным литературы [1] полиморфизм 582C/T ассоциирован с высокими аэробными возможностями.

При тестировании национальных команд в генотипах хоккеистов был обнаружен очень высокий (в 4 раза выше, чем в контроле) процент редкого аллеля T полиморфизма 582C/T, который дает повышенный уровень экспрессии HIF1 (рис. 1).

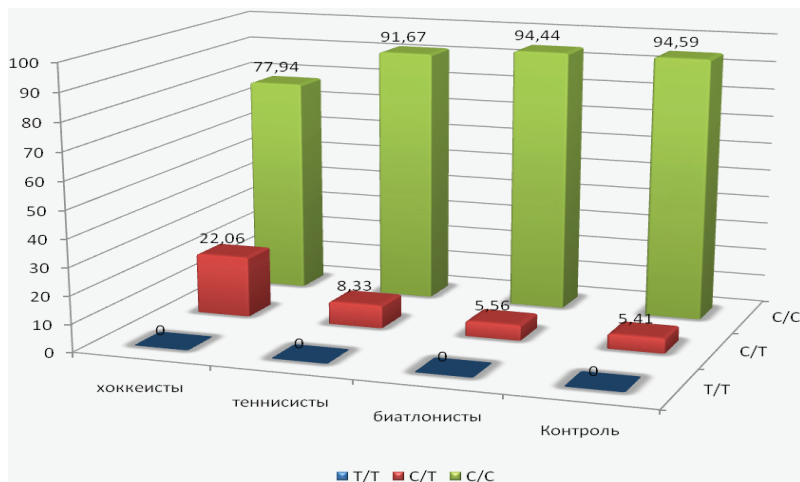


Рис. 1. Частоты генотипов по гену HIF1A у спортсменов разной специализации

Существенное превышение частоты данного аллеля выявлено и у теннисистов (рис. 1). Обнаружение этого редкого полиморфизма у элитных спортсменов свидетельствует о более высокой устойчивости их носителей к физическим нагрузкам и о важности данного маркера для отбора начинающих спортсменов.

Подгруппа генов роста эндотелия сосудов. Ген VEGF играет центральную роль в процессе ангиогенеза, являясь основным фактором роста эндотелия сосудов. VEGF улучшает кровоснабжение мышечной ткани (как скелетной мускулатуры, так и миокарда), через увеличение количества новообразованных сосудов [3]. Синтез VEGF увеличивается под влиянием тренировок и при воздействии гипоксии [3]. Нами проанализирована однонуклеотидная замена С634G.

В работе [3] показано, что средняя частота аллеля выносливости С634 в мире составляет 30%, по нашим данным в Беларуси она равна 25,3%. Некоторое превышение частоты этого аллеля выявлено только у теннисистов (29,3%) У них же обнаружен высокий (в 3 раза выше, чем в контроле) уровень генотипа С/С (рис. 2)

Ген PAI-1 впервые использован нами для выявления спортивной успешности. Повышение уровня PAI-1 при гипоксии приводит к снижению фибринолиза и образованию фибриновой основы для роста сосудов в процессе ангиогенеза. Уровень PAI-1 в плазме крови ассоциирован с полиморфизмом в области промотора гена PAI-1, представляющего собой однонуклеотидную делецию/инсерцию гуанина (4G/5G).

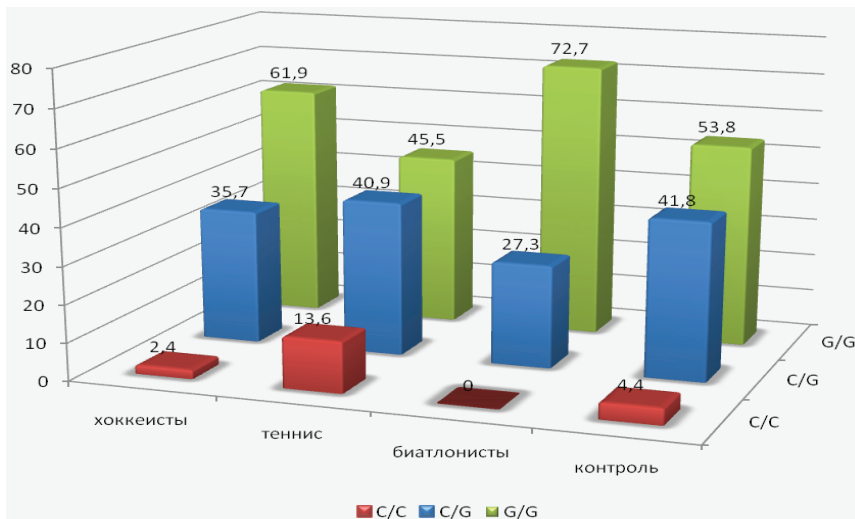


Рис. 2. Частоты генотипов по гену VEGF у спортсменов разной специализации

При ДНК-тестировании спортсменов установлено, что в команде биатлонистов благоприятные гомозиготы 4G/4G (63,5%) существенно превышают и контрольный уровень, и аналогичный показатель у спринтеров хоккеистов, у которых преобладают гетерозиготы — 50,0% (рис. 3).

Гены системы транспорта кислорода и углеводно-жирового обмена

МВ — железосодержащий белок мышечных клеток, аналог гемоглобина эритроцитов крови. МВ отвечает за транспорт кислорода в скелетных мышцах и в мышце сердца. В гене МВ нами протестирована однонуклеотидная замена А79G.

По нашим данным, частота аллели 79А в популяции Беларуси близка к литературным данным и составляет 40,7%, а частота генотипа АА — 3,5%.

У хоккеистов выявлено значительное превышение частоты редкого генотипа АА по сравнению с контролем и другими протестированными командами, что свидетельствует о важности этого полиморфного варианта для скоростно-силового вида спорта (таблица).

PPARG — ген гамма-рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом, кодирует семейство ядерных рецепторов, регулирующих экспрессию большинства генов, вовлеченных в жировой и углеводный обмен [4]. Наиболее значимым является полиморфизм Pro12 A1 a. Ala — аллель быстроты и силы. Для носителей аллеля Ala было отмечено более активное улучшение метаболизма глюкозы и инсулина в ответ на регулярные тренировки на выносливость [4].

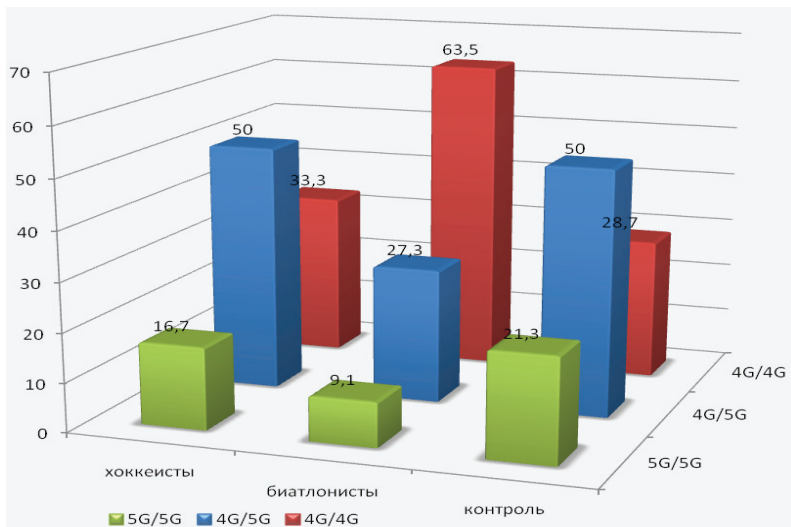


Рис. 3. Частоты генотипов по гену PAI-1 у спортсменов разной специализации

Встречаемость Ala аллеля у европейцев составляет в среднем от 9 до 18% по данным разных авторов. По нашим данным в белорусской популяции частота аллеля Ala составляет 14,3%.

В ходе тестирования групп элитных спортсменов установлено существенное превышение частоты встречаемости благоприятного редкого генотипа Ala/Ala у хоккеистов (таблица). Полученные результаты позволяют сделать вывод, что носительство этого генотипа способствует развитию и проявлению быстроты и силы.

Таблица

Частоты генотипов и аллелей генов MB и PPARC у спортсменов разной специализации

Вариант гена, спортсмены	Генотипы, %			Аллели, %	
MB (A79G)	GG	GA	AA	G	A
Хоккеисты	16,7	69,0	14,3	51,2	48,8
Теннис	42,3	50,0	7,7	67,3	32,7
Биатлонисты	18,2	81,8	0,0	59,1	40,9
Контроль	23,0	73,5	3,5	59,3	40,7
PPARG	Pro/Pro	Pro/Ala	Ala/Ala	Pro	Ala
Хоккеисты	71,4	23,8	4,8	83,3	16,7
Теннис	80,0	20,0	0,0	90,0	10,0
Биатлонисты	54,5	45,5	0,0	77,3	22,7
Контроль	73,3	25,4	1,6	85,7	14,3

Закключение

Проведено тестирование образцов ДНК членов Национальных команд Беларуси по биатлону, хоккею и большому теннису, как потенциальных носителей генотипов, наиболее благоприятных для этих видов спорта. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что команды хоккеистов отличаются от изученных команд других видов спорта высокой частотой редкого генотипа AA по гену MB и также редкого, ассоциированного с быстротой и силой, генотипа Ala/Ala по гену PPARC. Кроме того в генотипах хоккеистов был обнаружен очень высокий (в 4 раза выше, чем в контроле) процент редкого аллеля T гена HIF1, который ассоциирован с большими аэробными возможностями.

У биатлонистов по сравнению с хоккеистами и теннисистами преобладают 4G аллели и 4G/4G генотипы по гену PAI-1, повышение уровня которого при гипоксии является основой для роста новых кровеносных сосудов.

Что касается теннисистов, то они отличаются высокой частотой редкого генотипа C/C по гену VEGF и также повышенными (но менее, чем у хоккеистов) уровнями редкого генотипа AA по гену MB и редкого аллеля T гена HIF1.

Выявление у выдающихся спортсменов этих редких вариантов генов, существенно повышающих физическую выносливость или скоростно-си-

ловые способности, может быть использовано для разработки программ отбора начинающих спортсменов.

Литература

1. *Ahmetov I. I.* The role of gene variants in determination of individual differences in aerobic performance // 12th Ann. Cong. ECSS, July 11–14, 2007 / Jyväskylä, Finland. — Book of Abs. — 2007. — P.357.

2. *Schneiderman J., Sawdey M.S., Keeton M.R., Bordin G.M., Bernstein E.F., Dilley R.B., Loskutoff D.J.* Increased type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in atherosclerotic human arteries // *Proc Natl Acad Sci USA.* — 1992. — № 89. — P. 6998–7002.

3. *Ahmetov I. I., Khakimullina A. M.* Polymorphism of the Vascular Endothelial Growth Factor Gene (VEGF) and Aerobic Performance in Athletes // *Human Physiology.* — 2008. — Vol. 34, № 4. — P. 477–481.

4. *Dias R. G.* Genetic polymorphisms determining of the physical performance in elite athletes // *Rev. Bras. Med. Esporte.* — 2007. — Vol. 13, № 3. — P. 186–192.

Резюме

Проведено тестирование образцов ДНК членов Национальных команд Беларуси по биатлону, хоккею и теннису, как потенциальных носителей уникальных генотипов. У представителей разных видов спорта выявлены различные редкие варианты генов HIF1, VEGF, PAI-1, MB и PPARG, существенно повышающих физическую выносливость или скоростно-силовые способности.

DNA analysis of the members from some National teams of Belarus (on biathlon, hockey, tennis) was performed. Polymorphisms in HIF1, PAI-1, VEGF, MB, PPARG genes were studied. The frequencies of allelic variants defining increased functional activity in high-skill sportsmen were shown to exceed mean values, typical for the persons not playing sport. Some distinctions in genotypes of athletes playing different sports were revealed.

НЕУМЕРЖИЦЬКА Л. В., ШКАРУПА В. Н., КЛИМЕНКО С. В.

*ДУ «Національний Науковий Центр Радіаційної Медицини НАМН України»,
Україна, 04050 Київ, вул. Мельникова, 53, e-mail: lneum@bigmir.net*

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЧАСТОТИ ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЙ В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ

Рак щитоподібної залози (РЩЗ) належить до числа тих злоякісних новоутворень, які, незважаючи на відносну рідкість і на відносно сприятливий перебіг, привертають до себе увагу фахівців різного профілю. Число наукових досліджень щодо причин виникнення даної патології особливо збільшилося після Чорнобильської аварії. Оскільки радіогенний РЩЗ розвивається через 7–10 років після опромінення, а ризик захворюваності існує протягом усього життя людини, кількість хворих на РЩЗ серед тих, хто зазнав радіаційного впливу внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС, неухильно зростає, причому за рахунок осіб молодшого і середнього віку

[1]. В етіології РЩЗ певну роль відіграють хімічні сполуки-канцерогени, що пов'язані з несприятливими екологічними умовами, спосіб життя, харчування та спадкові схильності, але переважна більшість випадків раку, на думку радіобіологів і генетиків, обумовлено радіацією. Саме іонізуюча радіація здатна індукувати геномну нестабільність у вигляді різних порушень генетичного апарату (аберації хромосом, генні мутації, сестринські хроматидні обміни, анеуплоїдії, поліплоїдії) в нащадках багаторазово поділених клітин, коли порушується цілісність ДНК, а адекватні процеси відновлення (репарації) відсутні [2,3].

На сьогодні існує багато наукових робіт про підвищений рівень частоти аберацій хромосом у хворих на радіаційно-асоційований рак. Проблемою досліджень у цій галузі є те, що радіаційне опромінення є причиною розвитку лише частини випадків у групах хворих на радіаційно-асоційований рак, тоді як більшість з них має генетичне походження. Але, на жаль, на питання генетичної компоненти щодо схильності до раку немає єдиної точки зору. Точаться і нині суперечки щодо первинності або вторинності змін хромосом в розвитку раку та зв'язку між рівнем первинних порушень в клітинах (хромосомні аберації, мутації, геномна нестабільність) і станом здоров'я.

Дослідження на культурі клітин дозволили встановити, що хромосомні порушення передують появі ракового переродження [4]. Проте, в інших роботах вказано, що розлади метаболізму, які виникають у хворих з різною патологією, можуть сприяти формуванню перебудов хромосом [5]. Не існує також єдиної думки з приводу того, наскільки великий ризик захворювання на рак при дії малих доз опромінення [6].

Вирішення цього питання особливо важливе для прогнозу здоров'я населення Чорнобильського регіону, яке було евакуйоване, а також великої частки ліквідаторів, що зазнали радіаційного впливу.

Мета роботи полягала у визначенні частоти та спектру хромосомних аберацій в лімфоцитах периферичної крові хворих на РЩЗ, що зазнали дії іонізуючої радіації внаслідок аварії на ЧАЕС.

Матеріали та методи

Для вирішення питань щодо визначення частоти структурних та числових хромосомних аберацій в лімфоцитах периферичної крові у хворих на РЩЗ та встановлення відмінностей рівня аберацій хромосом у хворих та здорових осіб було сформовано 2 дослідницькі групи.

Перша група включала цитогенетичне дослідження хромосомних аберацій (ХА) в лімфоцитах крові хворих на РЩЗ, що в минулому піддавалися неконтрольованому радіаційному впливу: ліквідаторів наслідків аварії на ЧАЕС. Цитогенетичне обстеження онкохворих здійснювалося після оперування, до отримання хіміо-, радіоїод- та рентгентерапії, що могло б вплинути на чистоту дослідження. Вік обстежених коливався від 37 до 56 років. Контрольна група складалася з практично здорових осіб у віці від

36 до 50 років, що не мали професійних контактів з джерелами іонізуючого випромінювання, а також гострих захворювань за три місяці до обстеження і діагностичних рентгенологічних процедур за півроку до обстеження. Аналіз проводився на зашифрованих препаратах.

Цитогенетичний аналіз ХА першого мітотичного поділу проводився за допомогою дослідницького бінокулярного світлового мікроскопу AxioLab з використанням масляної імерсії. Враховувалися усі структурні та числові аберації, як хромосомного, так і хроматидного типів. На кожне спостереження аналізувалося від 100 до 200 метафаз. Цитогенетичні ефекти оцінювали за такими параметрами: відсоток аберантних метафаз (АМ), кількість хромосомних аберацій на 100 клітин, число одиночних та парних фрагментів, дицентриків та кільцевих хромосом на 100 клітин згідно з рекомендаціями Н. П. Бочкова [7].

Результати та обговорення

Для оцінки хромосомної нестабільності в соматичних клітинах онкохворих аналізувалися показники кожної окремої особи по всім досліджуваним показникам з подальшим порівнянням між собою. Критерієм цитогенетичних пошкоджень являлися структурні і числові ХА, що розглядаються як найбільш вірогідні події, пов'язані з малігнізацією. Тому анеуплоїди окремо не виділялися, вони вносилися у загальну кількість АМ. Але, не виключено і те, що наявність анеуплоїдів може сприяти появі нових структурних порушень.

На підставі отриманого цитогенетичного аналізу було виявлено, що частота АМ в лімфоцитах крові хворих на РЩЗ не рівномірна і коливається від $1,47 \pm 1,02\%$, до $3,41 \pm 1,67\%$. Аберації були представлені порушеннями хромосомного і хроматидного типу. Майже у всіх хворих спостерігається наявність парних і одиничних фрагментів. Число парних фрагментів на 100 клітин у деяких пацієнтів дорівнює $\max 1,70 \pm 1,19\%$, $\min 0,13 \pm 0,10\%$. Але різниця по всім показникам статистично не достовірна. У половини хворих взагалі не виявлено наявності аберацій хромосомного типу. У двох пацієнтів спостерігалось незначне число міжхроматидних обмінів, що дорівнювало $0,27 \pm 0,17\%$ та $1,07 \pm 1,06\%$, що також статистично не достовірно. Не зареєстровано кільцевих та дицентричних хромосом у всіх хворих.

Виходячи з того, що всі проаналізовані показники за спектром і рівнем ХА в лімфоцитах крові у всіх хворих статистично не відрізняються між собою, було розраховано середньогруповий рівень цитогенетичних показників. Даний рівень показав, що середньогрупова частота лімфоцитів з абераціями хромосом у групі хворих на РЩЗ складала $2,21 \pm 0,34\%$ на кожні 100 клітин, що суттєво не перевищує значення верхньої межі спонтанного рівня. Середньогрупова частота структурних мутацій також не перевищувала спонтанний рівень і складала $1,59 \pm 0,28\%$. Співвідношення числа аберацій хромосомного і хроматидного типу майже однакове і дорівнює

1,19 $\pm$ 0,24% і 1,14 $\pm$ 0,07% відповідно. В поодиноких випадках були зареєстровані міжхроматидні обміни (0,17 $\pm$ 0,09%). В спектрі ХА не зареєстровано специфічних маркерів радіаційного впливу, якими є дицентрики, кільцеві хромосоми, аномальні моноцентрики.

Підсумовуючи дослідження цитогенетичного аналізу лімфоцитів периферичної крові в групі хворих на РЩЗ, які в минулому зазнали іонізуючого опромінення, можна констатувати, що частота хромосомних пошкоджень в соматичних клітинах не перевищує спонтанний рівень, а відсутність специфічних маркерів радіаційного впливу не свідчить про радіогенний характер захворювання.

Дані цитогенетичного аналізу метафазних пластинок периферичної крові донорів, які увійшли в контрольну групу свідчать, що частота АМ варіює з 0,83 $\pm$ 0,80% до 3,00 $\pm$ 1,20%. Незважаючи на досить значний діапазон розбіжностей за даним показником, різниця між ними статистично не достовірна. Крім того, максимальний рівень в 3,0%, хоча і є завищеним, але не суперечить даним літератури про спонтанний рівень ХА. Так, за даними Пілінської і співавт. [8], частота ХА у здорових осіб дорівнювала 1,20 на 100 метафаз, а згідно досліджень російських авторів коливалась між 0 і 9,68 на 100 клітин, а в середньому складала 2,13% [9], в той час як за даними японського дослідника Kasuo Othaki [цит.по 10] середньогрупова частота всіх типів аберацій складала 3,25 на 100 клітин. В число АМ включалися числові та структурні ХА. Оскільки саме структурні порушення є показником канцерогенезу, анеуплоїдія, хоча і включалась в загальну кількість АМ, але окремо не враховувалася. При цитогенетичному аналізі лімфоцитів даної групи донорів були виявлені ХА, які буди представлені парними і одиночними фрагментами і тільки у одного донора зареєстрована кільцева хромосома. Дицентриків не виявлено.

Виходячи з того, що наявність ХА у кожного окремого донора контрольної групи статистично не відрізнялось між собою, усі отримані результати за кожним окремих показником були об'єднані в загальну суму (як і в першій досліджуваній групі), і частота порушень розраховувалась як середньогрупова. На підставі аналізу було констатовано, що середньогрупова частота АМ в 1,95 $\pm$ 0,40% не виходить за межі спонтанного рівня.

Отримані дані цитогенетичного аналізу лімфоцитів периферичної крові хворих на РЩЗ і контрольної групи показали, що рівень середньогрупової частоти ХА між двома групами по всім показникам статистично не відрізняється, і не дає підстави для припущення зв'язку хромосомних порушень з новоутвореннями (див. рисунок).

Таким чином, визначення відмінностей дестабілізації геному на хромосомному рівні в соматичних клітинах хворих на РЩЗ та здорових осіб є попередніми результатами, що потребують подальших досліджень для більш детального розкриття причин виникнення радіаційно-асоційованого, або спонтанного раку щитоподібної залози в осіб, що зазнали радіаційно-

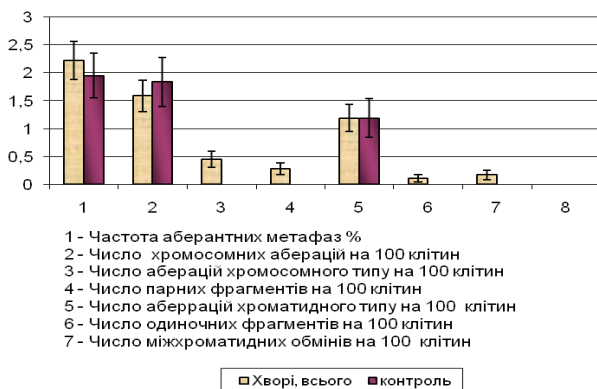


Рис. Спектр і частота хромосомних аберацій

го впливу. Для цього необхідні дослідження із застосуванням молекулярних методів і методу аналізу диференційно забарвлених хромосом, який виявляє хромосомні порушення нестабільного типу, а також дослідження індивідуальної радіочутливості окремої особи, яка залежить від багатьох неконтрольованих факторів здатних її модифікувати. Всі ці фактори будуть враховані в подальших дослідженнях.

Висновки

Встановлено, що середньогрупова частота лімфоцитів з аберациями хромосом у групі хворих на РЩЗ, що були евакуйовані з забруднених територій, ліквідаторів та мешканців радіаційно-забруднених районів, статистично не відрізняється від контролю і не перевищує значення спонтанного рівня хромосомних аберацій.

Література

1. *Присяжнюк А. Е.* Рак щитоподібної залози // Присяжнюк А. Е., Фузік М. М. Романенко А. Ю. та ін. / Медичні наслідки Чорнобильської катастрофи 1986–2011 Тернопіль ТДМУ «Укрмедкнига» 2011. — С. 208–215.
2. *Берштейн Л. М.* Рак щитовидной железы: эпидемиология, эндокринология, факторы и механизмы канцерогенеза // Практическая онкология. — Т. — 8, № 1. — 2007. — С. 1–8.
3. *Моссэ И. Б.* Проблемы оценки генетических эффектов ионизирующей радиации у человека // Техногенна безпека. — 2010. — Т. 116. — Вип. 103. — С. 4–8.
4. *Погосянц Е. Е.* Новое в цитогенетике рака // Генетика — 1981. — Т. 17. — № 1. — С. 2087–2099.
5. *Дурнев А. Д., Середенин С. В.* Мутагены. Скрининг и фармакологическая профилактика воздействий. — М., 1998. — 289 с.
6. *Дьоміна Е. А.* Цитогенетичні ефекти в соматичних клітинах хворих на рак щитоподібної залози // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. — 2008. — Т. 6, № 1. — С. 52–59.
7. *Бочков Н. П.* База данных для анализа количественных характеристик частоты хромосомных аберраций в культуре лимфоцитов периферической кро-

ви человека / Н. П. Бочков, А. Н. Чеботарев, Л. Д. Катосова // Генетика. — 2001. — Т. 37, № 4. — С. 549–557.

8. Рівень спонтанних хромосомних аберацій у дітей з екологічно чистого регіону України, встановлений при цитогенетичному аналізі рівномірно та диференційно забарвлених метафазних хромосом / М. А. Пілінська, С. С. Дибський, О. В. Шеметун, О. О. Талан // Цитология и генетика. — 2004. — № 6. — С. 45–48.

9. Любимова Н. Е. Влияние низкодозового радиационного воздействия на возрастную динамику частоты спонтанных и индуцированных *in vitro* хромосомных абераций в лимфоцитах человека: дис. ... канд. биол. наук: 03.00.01 / Любимова Наталия Евгениевна. — Москва, 2007. — 160 с.

10. Intercellular distribution of aberrations detected by means of chromosome painting in cells of patients with cancer prone chromosome instability syndromes / R. Arutyunyan, S. Neubauer, P. Martus, T. Durk, M. Stumm, E. Gebhart // Experimental Oncology. — 2001. — Vol. 23. — P. 23–28.

Резюме

Проведено порівняльний аналіз частоти та спектру хромосомних аберацій в лімфоцитах периферичної крові хворих на рак щитоподібної залози, що зазнали радіаційного впливу та умовно здорових осіб. Встановлено, що середньогрупова частота лімфоцитів з абераціями хромосом у хворих на рак щитоподібної залози достовірно не відрізняється від аналогічного показника контрольної групи і не перевищує значення верхньої межі середньопопуляційного спонтанного рівня.

Проведен сравнительный анализ частоты и спектра хромосомных абераций в лимфоцитах периферической крови больных раком щитовидной железы, подвергшихся радиационному воздействию и условно здоровых лиц. Установлено, что среднегрупповая частота лимфоцитов с аберациями хромосом у больных раком щитовидной железы достоверно не отличается от аналогичного показателя контрольной группы и не превышает значения верхней границы среднепопуляционного спонтанного уровня.

The frequency and spectrum of chromosomal aberrations were analyzed in peripheral blood lymphocytes of patients with thyroid cancer which were exposed to radiation and apparently healthy individualst. It was established group average frequency of lymphocytes with chromosomal aberrations in patients with thyroid cancer are not significantly different from same period of the control group and do not exceed the value of the upper limit of average spontaneous level in a population.

ПАПУГА А. П., ЛУКАШ Л. Л.

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины

Украина, 03143, Киев, ул. Заболотного, 150, e-mail: alexander.papuga@gmail.com

СОВРЕМЕННЫЕ ДЕРМО-ЭПИДЕРМАЛЬНЫЕ КОЖНЫЕ ЭКВИВАЛЕНТЫ

Потребность в биоинженерных конструкциях, имитирующих кожу человека, или, иначе говоря, потребность в искусственной коже весьма высока. Поэтому мы считаем полезным дать обзор современных клинически доступных дермо-эпидермальных или композитных кожных эквивалентов.

Они являются наиболее сложными, продвинутыми и дорогими продуктами среди биоконструкций, имитирующих кожу человека [1]. Для закрытия обширных ран, влекущих за собою значительные потери кожного покрова, традиционно используются хирургические методы. Однако, например, при обширных глубоких ожогах более 30–40 % поверхности тела оказывается невозможным своевременно закрыть все ожоговые раны при помощи лишь одних донорских трансплантатов из-за дефицита донорских ресурсов. Эта проблема может быть преодолена путём разработки дермо-эпидермальных заменителей кожи. В настоящее время эти биоконструкции несут только два клеточных типа — кератиноциты и фибробласты — и не содержат нервных волокон, иммунных клеток, потовых желез и волосных фолликулов. Композитные заменители кожи действуют скорее как временные биологически активные покровы для раны [2], обеспечивая факторы роста, цитокины и экстрацеллюлярный матрикс для клеток организма-реципиента при инициации и регулировании процесса заживления раны. Есть отчеты об иммуногенной толерантности организма-реципиента к аллогенным фибробластам [3] и их выживании в организме до трех недель [4]. Также сообщалось о долговременном сохранении аллогенных фибробластов и их пролиферации до двух месяцев в организме без симптомов иммунного отторжения [5–10]. Аллогенные кератиноциты обеспечивают эффективное избавление от боли и ускоряют заживление раны, но они гибнут через несколько недель после применения, потому что они отторгаются организмом [11, 12]. Возможно, что экспрессия человеческого лейкоцитарного антигена (HLA) различна в фибробластах и кератиноцитах, следовательно аллогенные фибробласты являются менее склонными к иммунному отторжению, иницированному комплексом антигена. Поэтому, чтобы производить постоянные дермо-эпидермальные заменители кожи, следует знать, что для этого могут использоваться и аллогенные, и аутологичные фибробласты, но при этом могут использоваться только аутологичные кератиноциты.

Первым упомянутым дермо-эпидермальным заменителем кожи будет «Karoskin» (Karoskin Karocell Tissue Engineering AB, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden) — человеческий аллотрансплантат частичной толщины, трупного происхождения, используется как временная мера для закрытия раны, пока не будет возможно закрыть её постоянным кожным трансплантатом. Трупный аллотрансплантат может быть или свежим, или замороженным. Он инкорпорируется в глубокую рану, обеспечивая облегчение боли и временное покрытие в течение первых нескольких недель после травмы, когда иммунная реакция пациента подавлена в результате обширных ожогов. Когда аллотрансплантат васкуляризуется, высокоиммунные эпителиоциты вызывают иммунную реакцию хозяина, и аллотрансплантат отторгается, обычно через три-четыре недели после трансплантации. Если аллотрансплантат пропитывается глицерином или лиофилизируется, то его клеточный компонент разрушается, и иммунологическая

реакция уменьшается; дермальная часть трансплантата становится частично включенной в рану и служит дермальным ложем для дальнейших аутологических кожных трансплантатов.

Аллотрансплантаты использовались в течение многих десятилетий [13] и остаются стандартом по сравнению с другими временными заменителями кожи [14]. Аллотрансплантаты могут быть куплены как товарный продукт («Karoskin»), а также могут быть получены от некоммерческих европейских банков кожи. Однако использование аллотрансплантата связано с такими вопросами, как готовность банков кожи, возможность отказа от применения по религиозным мотивам, и безопасность аллотрансплантата для пациентов. Строгий скрининг для вирусных болезней и стандартизированные методы стерилизации уменьшают риск инфекции, но некоторый риск передачи инфекционных агентов всё ещё остаётся.

Биоконструкция «Apligraf» (Apligraf Organogenesis Inc., Canton, Massachusetts, CA, USA) состоит из комплекса живых аллогенных неонатальных фибробластов, выращенных в гелевом матриксе из бычьего коллагена типа I, и живых аллогенных неонатальных кератиноцитов. Вместе эти клетки формируют конфлюэнтный слой в конструкции, таким образом имитируя нормальную структуру человеческой кожи. Хотя этот продукт не вызывает иммунологического отторжения, аллогенные клетки конструкции не выживают после одного-двух месяцев *in vivo* [7, 10]. Следовательно, Apligraf, который первоначально позиционировался как заменитель кожи, можно рассматривать только как временный биоактивный покров для раны. Этот материал доставляет к ложу раны компоненты экстрацеллюлярного матрикса, цитокины и факторы роста, такие как интерфероны α и β , PDGF, интерлейкины 1, 6 и 8 [15, 16]. Есть отчеты об использовании Apligraf при лечении ожогов [17, 18], и некоторые авторы полагают, что это будет альтернативой к традиционной пересадке кожи при лечении ожоговых ран частичной толщины. Эта биоконструкция не может использоваться, однако, для лечения ожоговых ран полной толщины из-за временной природы пересаженных аллогенных клеток, и поэтому требуется дополнительная трансплантация, которая приносит источник аутологических эпителиальных клеток. Недостатки включают низкую продолжительность хранения (не более 5 дней), необходимость деликатного обращения с продуктом и риск передачи инфекции от аллогенных компонентов продукта. Несмотря на эти проблемы, данная биоинженерная конструкция, как сообщают, является клинически наиболее успешным продуктом в своей категории, дающим при лечении язв 25%-ное повышение выздоровления по сравнению с обычным лечением [12]. Неясно, будет ли этот продукт широко распространён в практике лечения ожогов и реконструкции кожи при лечении больших ран.

Тканеинженерный заменитель кожи «OrCell» (OrCel Ortec International, Inc., New York, NY, USA) включает в себя культивированные аллогенные

фибробласты и кератиноциты, полученные из неонатальной крайней плоти полового члена. Фибробласты засеяны в коллагеновый гель из бычьего коллагена типа I, на одну из сторон которого добавлены кератиноциты, формирующие конфлюэнтный слой. Продукт был залицензирован в 2001 году, чтобы лечить ожоговые раны и донорские места получения кожных трансплантатов. Этот двухслойный биоматериал, как сообщается, производит множество цитокинов и факторов роста, таких как фактор роста фибробластов-1, фактор роста кератиноцитов-1, фактор роста тромбоцитов, сосудистый эндотелиальный фактор роста и трансформирующий фактор роста- α , которые благоприятно влияют на миграцию клеток организма-реципиента и заживление раны, таким образом происходит «кондиционирование» ложа раны для дальнейшей обработки с использованием кожных трансплантатов. Использование данной биоконструкции позволяет снизить шрамобразование и время заживания раны [19]. Продукт играет временную роль, резорбируется через 7–14 дней после применения (подобно Apligraf).

Биоконструкция «PolyActive» (PolyActive HC Implants BV, Leiden, The Netherlands) основана на аутологичных культивируемых кератиноцитах и фибробластах, засеянных в матрицу PolyActive. Эта пористая матрица состоит из мягкого компонента терефталата полиэтиленоксида и твердого компонента полибутилен терефталата, что предвращает сокращение поверхности продукта [20, 21]. PolyActive обычно используется для реконструкции кости, и его использование для репарации кожи мало описано в литературе. Продукт использует аутологичные клетки и поэтому не влечёт за собой риск иммунного отторжения или передачи инфекционных агентов. Однако, использование аутологичных клеток может затруднить получение продукта в нужный момент и увеличить затраты по сравнению с конкурентными продуктами (например, Apligraf, OrCell), использующие аллогенные клетки. Возможно, PolyActive может найти применение как биологически активный покров при лечении ран частичной толщины и также донорских мест для получения кожных трансплантатов, обеспечивая факторы роста, стимулирующие заживление раны. Тот факт, что этот продукт представляет собой синтетическое кожное изделие, препятствует его использованию как постоянного заменителя кожи.

Система «TissueTech Autograft System» объединяет два биоматериала, разработанные в Fidia Advanced Biopolymers (Abano Terme, Italy) и применяемые последовательно: биоконструкция для замены дермы Hyalograft 3D и эпидермальный заменитель Laserskin [22]. Они основаны на аутологичных кератиноцитах и фибробластах, выращенных на микроперфорированных мембранах из гиалуроновой кислоты и описаны ниже. Согласно доступным публикациям (Ucciolì 2003), эта система позволила успешно лечить диабетические язвы нижних конечностей, как установлено в рандомизированных клинических испытаниях. Хотя эта система может позволить достичь полного смыкания раны, это не «истинный» двухслойный

заменитель кожи, где и дермальный и эпидермальный слои присутствуют, а лишь комбинация двух биоматериалов.

Как мы можем видеть, в настоящее время существующие заменители кожи (как дермо-эпидермальные, так и более простые дермальные и эпидермальные) имеют ограниченную роль в процессе излечения ран. Они служат преимущественно в качестве временного биологически активного покрова, донора цитокинов и структурных молекул, необходимых для заживления раны, в то время как собственная кожа пациента восстанавливается. Полностью заменить поврежденную кожу эти биоконструкции на текущем уровне их сложности не могут [23, 24].

Литература

1. Jones I., Currie L., Martin R. A guide to biological skin substitutes // Br. J. Plast. Surg. — 2002. — Vol. 55. — P. 185–193.
2. Supp D. M., Boyce S. T. Engineered skin substitutes: practices and potentials // Clin. Dermatol. — 2005. — Vol. 23. — P. 403–412.
3. Coulomb B., Friteau L., Baruch J., Guilbaud J., Chretien-Marquet B., Glicenstein J., Lebreton-Decoster C., Bell E., Dubertret L. Advantage of the presence of living dermal fibroblasts within in vitro reconstructed skin for grafting in humans // Plast. Reconstr. Surg. — 1998. — Vol. 101. — P. 1891–1903.
4. Morimoto N., Saso Y., Tomihata K., Taira T., Takahashi Y., Ohta M., Suzuki S. Viability and function of autologous and allogeneic fibroblasts seeded in dermal substitutes after implantation // J. Surg. Res. — 2005. — Vol. 125. — P. 56–67.
5. Sher S. E., Hull B. E., Rosen S., Church D., Friedman L., Bell E. Acceptance of allogeneic fibroblasts in skin equivalent transplants // Transplantation. — 1983. — Vol. 36. — P. 552–557.
6. Bell E., Sher S., Hull B. The living skin-equivalent as a structural and immunological model in skin grafting // Scan. Electron Microsc. — 1984. — P. 1957–1962.
7. Eaglstein W. H., et al. Acute excisional wounds treated with a tissue-engineered skin (Apligraf) // Dermatol. Surg. — 1999. — Vol. 25. — P. 195–201.
8. Hebda P. A., Dohar J. E. 1999 Transplanted fetal fibroblasts: survival and distribution over time in normal adult dermis compared with autogenic, allogenic, and xenogenic adult fibroblasts. Otolaryngol. Head Neck Surg. 121, 245–251.
9. Sandulache V. C., Zhou Z., Sherman A., Dohar J. E., Hebda P. A. Impact of transplanted fibroblasts on rabbit skin wounds // Arch Otolaryngol. Head Neck Surg. — 2003. — Vol. 129. — P. 345–350.
10. Griffiths M., Ojeh N., Livingstone R., Price R., Navsaria H. Survival of Apligraf in acute human wounds // Tissue Eng. — 2004. — Vol. 10. — P. 1180–1195.
11. Strande L. F., Foley S. T., Doolin E. J., Hewitt C. W. 1997 In vitro bioartificial skin culture model of tissue rejection and inflammatory/immune mechanisms // Transplant. Proc. — 1997. — Vol. 29. — P. 2118–2119.
12. Clark R. A., Ghosh K., Tonnesen M. G. Tissue engineering for cutaneous wounds // J. Invest. Dermatol. — 2007. — Vol. 127. — P. 1018–1029.
13. Quinby W. C. Jr, Burke J. F., Bondoc C. C. Primary excision and immediate wound closure // Intensive Care Med. — 1981. — Vol. 7. — P. 71–76.
14. Sheridan R. L., Tompkins R. G. Skin substitutes in burns // Burns. — 1999. — Vol. 25. — P. 97–103.

15. *Eaglstain W.H., Falanga V.* Tissue engineering for skin: an update // *J. Am. Acad. Dermatol.* — 1998. — Vol. 39. — P. 1007–1010.

16. *Ehrenreich M., Ruszczak Z.* Update on tissue-engineered biological dressings // *Tissue Eng.* — 2006. — Vol. 12. — P. 2407–2424.

17. *Waymack P., Duff R. G., Sabolinski M.* The effect of a tissue engineered bilayered living skin analog, over meshed split-thickness autografts on the healing of excised burn wounds. The Apligraf Burn Study Group // *Burns.* — 2000. — Vol. 26. — P. 609–619.

18. *Hayes D. W. Jr, Webb G. E., Mandracchia V.J., John K. J.* Full-thickness burn of the foot: successful treatment with Apligraf. A case report // *Clin. Podiatr. Med. Surg.* — 2001. — Vol. 18. — P. 179–188.

19. *Still J., Glat P., Silverstein P., Griswold J., Mozingo D.* The use of a collagen sponge / living cell composite material to treat donor sites in burn patients // *Burns.* — 2003. — Vol. 29. — P. 837–841.

20. *Xiao Y. L., Riesle J., Van Blitterswijk C. A.* Static and dynamic fibroblast seeding and cultivation in porous PEO/PBT scaffolds // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* — 1999. — Vol. 10. — P. 773–777.

21. *El Ghalbzouri A., Lamme E. N., van Blitterswijk C., Koopman J., Ponc M.* The use of PEGT/PBT as a dermal scaffold for skin tissue engineering // *Biomaterials.* — 2004. — Vol. 25. — P. 2987–2996.

22. *Uccioli L.* A clinical investigation on the characteristics and outcomes of treating chronic lower extremity wounds using the tissuetech autograft system // *Int. J. Low Extrem. Wounds.* — 2003. — Vol. 2. — P. 140–151.

23. *MacNeil S.* Progress and opportunities for tissue-engineered skin // *Nature.* — 2007. — Vol. 445. — P. 874–880.

24. *Metcalfe A. D., Ferguson M. W.* Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration // *J. R. Soc. Interface.* — 2007. — Vol. 4. — P. 413–437.

Резюме

В статті дан обзор дермо-епідермальних замінників шкіри, використовуваних в наше час при терапії обширних ран.

У статті дано огляд дермо-епідермальних замінників шкіри, що в даний час використовуються при терапії великих ран.

The overview outlines the dermal-epidermal skin substitutes those currently applied in the treatment of extensive wounds.

ПІДПАЛА О. В., ЯЦИШИНА А. П., ЛУКАШ Л. Л.

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України,

Україна, 03680, Київ, вул. Заболотного, 150, e-mail: pidpala@ukr.net

РОЗПОВСЮДЖЕННЯ МУТАЦІЇ A2706 А У МІТОХОНДРІАЛЬНІЙ ДНК ЛЮДИНИ СЕРЕД НОСІЇВ МАКРОГРУПИ L

Поліморфізм мітохондріальної ДНК (мтДНК) людини широко використовують у еволюційній антропології та популяційній історії [1–4]. За допомогою мітохондріального годинника визначено час і місце дивергенції основних гілок мтДНК [5–8] та виявлено напрямки міграційних потоків популяцій із Африканської прабатьківщини на інші континенти [9–11].

Аналізуючи послідовності мтДНК *Homo sapiens neanderthalensis* і *Homo sapiens Altai* виявлено, що у межах фрагмента, гомологічному ядерному псевдогену LSU-rRNA_Hsa вони несуть мутацію A2706 A [12], яка є однією із діагностичних для носіїв гаплогрупи Н людини [13]. Відомо, що гаплогрупа Н виникла у Передній Азії близько 25–30 тис. років тому, а з часом поширилась у Європу і на сьогодні є однією із найрозповсюдженіших гаплогруп серед європейської популяції [14]. Час дивергенції *H. s.*, *H. s. neanderthalensis* і *H. s. Altai* оцінюють близько 1 млн років тому [15], а прабатьківщиною людства розглядають Африканський континент [16], популяція якої є носієм макрогрупи L, де гаплогрупи L0-L2, L4-L6 характерні для жителів Африки, тоді як від гаплогрупи L3 пішло все різноманіття людських гаплотипів [11, 17–19]. Чи зустрічається серед носіїв макрогрупи L мутація A2706 A? Якщо так, то серед яких гаплогруп вона поширена? Це і визначило мету даної роботи.

Матеріали і методи

Проаналізували 789 послідовностей мтДНК носіїв макрогрупи L, зокрема гаплогрупи L0 (n=128), L1 (n=131), L2 (n=209), L3 (n=275) і L4-L6 (n=46), інформацію про які одержали із бази даних mtDNA (<http://www.ianlogan.co.uk/mtdna.htm>) та у GenBank (Реєстраційні номери EU092658-EU092966) [20]. Мутацію A2706 A визначали за допомогою програми Censor (<http://www.girinst.org/censor>) [21] у межах послідовності, яка гомологічна фрагментові ядерного псевдогена LSU-rRNA_Hsa (3753–3900) [12]. Для порівняння використовували послідовності мтДНК: *Pan troglodytes* NC_001643; *H. s. neanderthalensis* NC_011137; *H. s. Altai* NC_013993; *H. s.* NC_001807 (CRS), NC_012920 (rCRS). Вирівнювання нуклеотидних послідовностей фрагментів здійснювали з використанням програми DIALIGN 2.2.1 (<http://bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/dialign>) [22].

Результати та обговорення

Серед макрогрупи L мутацію A2706 A найчастіше спостерігали у носіїв гаплогрупи L0 (рис. 1, а), із відчутною перевагою серед підгаплогрупи L0d (рис. 1, б). Незначні частоти фіксували у представників гаплогруп L2 і L3, тоді як серед носіїв гаплогруп L1 і L4-L6 досліджувану мутацію не виявлено (рис. 1, а). Відсутність мутації у випадку носіїв гаплогруп L4-L6, які малочисельні на Африканському континенті [17] і для аналізу об'єднані в одну групу, можна пояснити малою вибіркою, тоді як у випадку представників гаплогрупи L1 вибірка була на рівні із гаплогрупою L0. Гаплогрупа L0 виникла приблизно 112–188 тис. років тому у Східній/Південній Африці і є першим із відгалужень від останнього загального предка (мітохондріальної Єви) [23]. Її найдавніша підгаплогрупа L0d поширена серед койсанських племен (бушменів) у Південній Африці [24]. Цікаво, що у базі даних SNPedia для субкладу L0d1 зазначено мутацію A2706 A як одну із маркувальних ([http://www.snpedia.com/index.php/Haplogroup_L0_\(mtDNA\)](http://www.snpedia.com/index.php/Haplogroup_L0_(mtDNA))).

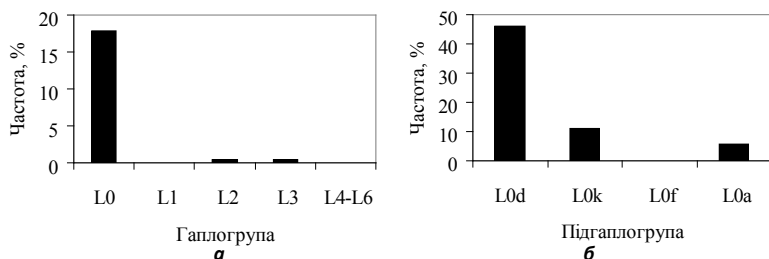


Рис. 1. Частота зустрічальності мутації A2706 А у мтДНК серед носіїв:
а — гаплогруп L0-L6; б — підгаплогруп гаплогрупи L0

У табл. наведено інформацію про 25 із проаналізованих 789 послідовностей, у яких виявили мутацію A2706 А. Переважно це представники койсанських племен із Південної Африки (Південно-Африканська Республіка, Намібія). У трьох випадках досліджувану мутацію зафіксували серед бантумовних народів, зокрема зулуси і тсвана. Крім Африканського континенту мутацію виявили у мешканця Близького Сходу (Саудівська Аравія).

Таблиця

Етнічна та генетична приналежність носіїв мутації A2706 А у мтДНК

п/п	Рестраційний номер у GenBank	Регіон	Країна	Етнічність	Підгаплогрупа/субклад
1	DQ112844	Південна Африка	*	насан	L0d1b
2	DQ112852	Південна Африка	Намібія	сан	L0d1b
3	DQ112854	Південна Африка	*	зулуси	L0d1a
4	DQ112855	Південна Африка	*	тсвана	L0d1b
5	DQ112856	Південна Африка	Намібія	сан	L0d1c1
6	DQ112899	Південна Африка	*	хой-сан	L0d1c1
7	EF184586	Східна Африка	Танзанія	*	L0d
8	EF184590	Південна Африка	Південно-Африканська Республіка (ПАР)	сан	L0d
9	EF184592	Південна Африка	ПАР	сан	L0d2
10	EF184593	Південна Африка	ПАР	сан	L0d2
11	EF184594	Південна Африка	ПАР	сан	L0d2
12	EU092831	Південна Африка	ПАР	сан	L0d1c
13	EU092832	Південна Африка	ПАР	сан	L0d1c1
14	EU092833	Південна Африка	ПАР	сан	L0d1a
15	EU092834	Південна Африка	ПАР	сан	L0d1c
16	EU092841	Південна Африка	ПАР	хой	L0d2d
17	EU092843	Південна Африка	ПАР	хой	L0d3
18	AF347008	Південна Африка	ПАР	сан	L0k1
20	EU092860	Південна Африка	ПАР	сан	L0a1b1
21	EU092863	Південна Африка	ПАР	**	L0a2a1
22	EU092965	Західна Африка	Гамбія	*	L0a1b2
23	EU092746	Близький Схід	Саудівська Аравія	*	L0a1b2
24	EU092856	Південна Африка	ПАР	сан	L2b1
25	EU092859	Південна Африка	ПАР	сан	L3f1b1

Примітки: * — не зазначено; ** — представник бантумовного народу.

Мутація A2706 А присутня у мтДНК *Pan troglodytes*, *H.s. neanderthalensis* і *H.s.Altai*, а також у відредагованій Кембріджській послідовності (rCRS), яка належить до гаплогрупи Н на відміну від початкової реферованої послідовності (CRS) (рис. 2). Беручи до уваги той факт, що *H.s.*, *H.s.neanderthalensis* і *H.s.Altai* розійшлись близько 1 млн років тому на Африканському континенті [15], можна припустити, що предкам койсанських племен ця мутація, очевидно, перейшла від попередників при дивергенції видів. А як бути із носієм еволюційно молодшої гаплогрупи Н? Ймовірно, носії із мутацією A2706 А схрещувались за межами Африканського континенту на території виникнення гаплогрупи Н [25].

а	1	AAGGTAGCAT	AATCACTTGT	TCCTTAAATA	GGGACCTGTA	TGAATGGCTC
б	1	AAGGTAGCAT	AATCACTTGT	TCCTTAAATA	GGGACCTGTA	TGAATGGCTC
в	1	AAGGTAGCAT	AATCACTTGT	TCCTTAAATA	GGGACCTGTA	TGAATGGCTC
г	1	AAGGTAGCAT	AATCACTTGT	TCCTTAAATA	GGGACCTGTA	TGAATGGCTC
д	1	AAGGTAGCAT	AATCACTTGT	TCCTTAAATA	GGGACCTGTA	TGAATGGCTC
е	1	AAGGTAGCAT	AATCACTTGT	TCCTTAAATA	GGGACCTGTA	TGAATGGCTC
а	51	CACGAGGGTT	TAGCTGTCTC	TTACTTTCAA	CCAGTGAAT	TGACCTACCC
б	51	CACGAGGGTT	CAGCTGTCTC	TTACTTTTAA	CCAGTGAAT	TGACCTGCCC
в	51	CACGAGGGTT	CAGCTGTCTC	TTACTTTTAA	CCAGTGAAT	TGACCTGCCC
г	51	CACGAGGGTT	CAGCTGTCTC	TTACTTTTAA	CCAGTGAAT	TGACCTGCCC
д	51	CACGAGGGTT	CAGCTGTCTC	TTACTTTTAA	CCAGTGAAT	TGACCTGCCC
е	51	CACGAGGGTT	CAGCTGTCTC	TTACTTTTAA	CCAGTGAAT	TGACCTGCCC
а	101	GTGAAGAGGC	GGGCA TAA CA	TAACAAGACG	AGAAGACCCT	ATGGAGCTT
б	101	GTGAAGAGGC	GGGCA TAA CA	CAGCAAGACG	AGAAGACCCT	ATGGAGCTT
в	101	GTGAAGAGGC	GGGCA TAA CA	CAGCAAGACG	AGAAGACCCT	ATGGAGCTT
г	101	GTGAAGAGGC	GGGCA TAA CA	CAGCAAGACG	AGAAGACCCT	ATGGAGCTT
д	101	GTGAAGAGGC	GGGCA TAA CA	CAGCAAGACG	AGAAGACCCT	ATGGAGCTT
е	101	GTGAAGAGGC	GGGCA TAA CA	CAGCAAGACG	AGAAGACCCT	ATGGAGCTT

Рис. 2. Вирівнювання нуклеотидних послідовностей у межах фрагментів, гомологічних ядерному псевдогену LSU-rRNA *Hsa* у мт-геномах:

а — *Pan troglodytes* NC_001643; *б* — *Homo sapiens neanderthalensis* NC_011137; *в* — *Homo sapiens Altai* NC_013993; *г* — *Homo sapiens* DQ112852 (сан L0d1b); *д* — *Homo sapiens* NC_001807 (CRS); *е* — *Homo sapiens* NC_012920 (rCRS). У рамці жирним шрифтом зазначено нуклеотиди у позиції 2706

Висновки

Серед макрогрупи L мутацію A2706 А спостерігали переважно у представників койсанських племен із Південної Африки, які є носіями підгаплогрупи L0d. Оскільки мутація також присутня у архаїчних представників роду *Homo* і у носія еталонної послідовності людини сучасного виду, припустили, що носії гаплогрупи Н могли одержати її внаслідок метисації за межами Африканського континенту на території виникнення гаплогрупи Н.

Жирепарыпа

1. *Castro J.A., Picornell A., Ramon M.* Mitochondrial DNA: a tool for populational genetics studies // *Int. Microbiol.* — 1998. — Vol. 1, № 4. — P. 327–332.
2. *Pakendorf B., Stoneking M.* Mitochondrial DNA and human evolution // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* — 2005. — Vol. 6. — P. 165–183.
3. *Garrigan D., Hammer M.F.* Reconstructing human origins in the genomic era // *Nat. Rev. Genet.* — 2006. — Vol. 7, № 9. — P. 669–680.
4. *Underhill P.A., Kivisild T.* Use of y chromosome and mitochondrial DNA population structure in tracing human migrations // *Annu. Rev. Genet.* — 2007. — Vol. 41. — P. 539–564.
5. *Cann R.L., Stoneking M., Wilson A.C.* Mitochondrial DNA and human evolution // *Nature.* — 1987. — Vol. 325, № 6099. — P. 31–36.
6. *Howell N., Elson J.L., Turnbull D.M., Herrnstadt C.* African Haplogroup L mtDNA sequences show violations of clock-like evolution // *Mol. Biol. Evol.* — 2004, № 10. — Vol. 21. — P. 1843–1854.
7. *Torroni A., Achilli A., Macaulay V. et al.* Harvesting the fruit of the human mtDNA tree // *Trends Genet.* — 2006. — Vol. 22, № 6. — P. 339–345.
8. *Soares P., Ermini L., Thomson N. et al.* Correcting for purifying selection: an improved human mitochondrial molecular clock // *Am. J. Hum. Genet.* — 2009. — Vol. 84, № 6. — P. 740–759.
9. *Maca-Meyer N., González A.M., Larruga J.M. et al.* Major genomic mitochondrial lineages delineate early human expansions // *BMC Genet.* — 2001. — Vol. 2. — P. 13.
10. *Mellars P.* Why did modern human populations disperse from Africa ca. 60,000 years ago? A new model // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2006. — Vol. 103, № 25. — P. 9381–9386.
11. *Rosa A., Brehem A.* African human mtDNA phylogeography at-a-glance // *J. Anthropol. Sci.* — 2010. — Vol. 89. — P. 25–58.
12. *Підпала О.В., Яцишина А.П., Лукаш Л.Л.* Фрагменти ядерних псевдогенів у мітохондріальних геномах Primates // *Фактори експериментальної еволюції організмів.* — 2011, т. 11. — С. 155–162.
13. *Van Oven M., Kayser M.* Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation // *Hum. Mutat.* — 2009. — Vol. 30, № 2. — P. 386–394.
14. *Achilli A., Rengo C., Magri C. et al.* The molecular dissection of mtDNA haplogroup H confirms that the Franco-Cantabrian glacial refuge was a major source for the European gene pool // *Am. J. Hum. Genet.* — 2004. — Vol. 75, № 5. — P. 910–918.
15. *Krause J., Fu Q., Good J.M. et al.* The complete mitochondrial DNA genome of an unknown hominin from southern Siberia // *Nature.* — 2010. — Vol. 464, № 7290. — P. 894–897.
16. *Vigilant L., Stoneking M., Harpending H. et al.* African populations and the evolution of human mitochondrial DNA // *Science.* — 1991. — Vol. 253. — P. 1503–1507.
17. *Gonder M.K., Mortensen H.M., Reed F.A. et al.* Whole-mtDNA genome sequence analysis of ancient African lineages // *Mol. Biol. Evol.* — 2007. — Vol. 24, № 3. — P. 757–768.
18. *Lambert C.A., Tishkoff S.A.* Genetic structure in African populations: implications for human demographic history // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* — 2009. — Vol. 74. — P. 395–402.

19. Campbell M. C., Tishkoff S. A. The evolution of human genetic and phenotypic variation in Africa // *Curr. Biol.* — 2010. — Vol. 20, № 4. — P. 166–173.
20. Behar D. M., Villemes R., Soodyall H. et al. The dawn of human matrilineal diversity // *Am. J. Hum. Genet.* — 2008. — Vol. 82, № 5. — P. 1130–1140.
21. Kohany O., Gentles A. J., Hankus L., Jurka J. Annotation, submission and screening of repetitive elements in Repbase: RepbaseSubmitter and Censor // *BMC Bioinformatics.* — 2006. — Vol. 7. — P. 474.
22. Morgenstern B. DIALIGN: Multiple DNA and Protein Sequence Alignment at BiBiServ // *Nucleic Acids Research.* — 2004. — Vol. 32. — W33–W36.
23. Salas A., Richards M., De la Fe T. et al. The making of the African mtDNA landscape // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — Vol. 71, № 5. — P. 1082–1111.
24. Watson E., Forster P., Richards M., Bandelt H. J. Mitochondrial footprints of human expansions in Africa // *Am. J. Hum. Genet.* — 1997. — Vol. 61, № 3. — P. 691–704.
25. Roostalu U., Kutuev I., Loogväli E. L. et al. Origin and expansion of haplogroup H, the dominant human mitochondrial DNA lineage in West Eurasia: the Near Eastern and Caucasian perspective // *Mol. Biol. Evol.* — 2007. — Vol. 24, № 2. — P. 436–448.

Резюме

Среди макрогруппы L мутацию A2706 A наблюдали преимущественно у представителей койсанских племен из Южной Африки, которые являются носителями субгаплогруппы L0d. Поскольку мутация также присутствует у архаических представителей рода *Homo* и у носителя эталонной последовательности человека современного вида, предположили, что носители гаплогруппы H могли получить ее вследствие метисации за пределами Африканского континента на территории возникновения гаплогруппы H.

Among macro-haplogroup L mutation A2706A has been observed mainly among representatives of Khoisan groups of South Africa who are carriers of haplogroup L0d. Since the mutation is also present in the archaic representatives of the genus *Homo* and in the carrier of reference sequence of modern human species, we have suggested that carriers of haplogroup H could get it by cross-breeding beyond the African continent on the territory of haplogroup H.

ПЛІНСЬКА М. А., ДИБСЬКИЙ С. С., ДИБСЬКА О. Б., ШВАЙКО Л. І.

*ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України»,
Україна, 04050 Київ, вул. Мельникова, 53; e-mail: prww@ukr.net*

РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНА МОДИФІКАЦІЯ ЧУТЛИВОСТІ ХРОМОСОМ СОМАТИЧНИХ КЛІТИН ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІВ ДО ТЕСТУЮЧОЇ МУТАГЕННОЇ ДІЇ БЛЕОМІЦИНУ *IN VITRO*

До пріоритетних проблем радіаційної генетики, що інтенсивно розроблюються в останнє десятиріччя, відноситься оцінка внеску т. з. «немішених» (nontargeted) генетичних ефектів іонізуючої радіації (зокрема, геномної нестабільності) у реалізацію віддалених медичних наслідків опромінення людини — стохастичної та деяких форм нестохастичної патології [1].

Одним із проявів нестабільності геному в соматичних клітинах людини є прихована (hidden) хромосомна нестабільність (ПХН), критерієм якої вважається величина надспонтанного цитогенетичного ефекту, індукованого в умовах *in vitro* еталонними мутагенами, найчастіше — радіоміметиком блеоміцином в тесті «G₂-bleomycin sensitivity assay» [2].

Цей тест було удосконалено нами та використано при цитогенетичному обстеженні учасників ліквідації аварії на ЧАЕС (УЛНА) з різними дозами опромінення, в результаті чого була доведена реальність радіаційно-індукованої модифікації генетично зумовленої чутливості хромосом соматичних клітин людини до тестуючої мутагенної дії блеоміцину, що, в свою чергу, призводить до підвищення частоти осіб із ПХН [3–5].

Відповідно до літературних даних, при цитогенетичному обстеженні пацієнтів з реалізованою онкопатологією було встановлено, що серед онкологічних пацієнтів частота індивідів з ПХН вірогідно перевищує таку серед здорових осіб, на підставі чого цей тест було рекомендовано для визначення схильності до індукції чи промоції канцерогенезу, а також для оцінки тривалості виживання онкохворих після радіо- та хіміотерапії [6, 7].

Для дослідження можливої асоціації між радіаційно-індукованим підвищенням індивідуальної чутливості до тестуючої мутагенної дії блеоміцину та реалізацією онкопатології у опромінених осіб нами було проведено цитогенетичне обстеження хворих на рак легенів (РЛ), які або заперечували свідомий контакт із радіаційним фактором, або мали професійний контакт з іонізуючим випромінюванням при ліквідації наслідків Чорнобильської аварії. Результати цього дослідження є змістом нашої роботи.

Матеріал та методи

Для добровільного цитогенетичного обстеження було сформовано наступні групи спостереження: Група порівняння — онкологічні пацієнти (15 осіб з діагнозом РЛ, встановленим у відділенні пульмонології відділу терапії радіаційних наслідків Інституту клінічної радіології ННЦРМ НАМН України), які заперечували свідомий контакт зі зніаними чи потенційними мутагенами (включаючи іонізуючу радіацію та протипухлинні цитостатики); всі пацієнти — чоловічої статі, віком 51–73 роки, середній вік — 60 років.

Професійна група 1–30 УЛНА у 1986–1987 р.р. (хронічний радіаційний вплив малої інтенсивності; переважно зовнішнє опромінення); всі особи — чоловічої статі, віком 24–58 років, середній вік — 41 рік. Індивідуальні офіційні дози опромінення в цій групі коливались від 24,3 до 240,0 мГр, складаючи в середньому 59,8 мГр.

Професійна група 2 — онкологічні пацієнти (15 УЛНА у 1986–1987 р.р. з діагнозом РЛ, встановленим у відділенні пульмонології відділу терапії радіаційних наслідків Інституту клінічної радіології ННЦРМ НАМН України), які були обстежені до використання радіо- чи хіміотерапії; всі пацієнти — чоловічої статі, віком 45–82 роки, середній вік — 58 ро-

ків. Індивідуальні офіційні дози опромінення в цій групі коливались від 24,2 до 180,4 мГр, складаючи в середньому 57,8 мГр.

Цільну кров культивували за напівмікрометодом у нашій модифікації. Умови культивування лімфоцитів і приготування препаратів метафазних хромосом, принципи проведення цитогенетичного аналізу та обліку хромосомних аберацій; алгоритм тесту «G₂-bleomycin sensitivity assay» та визначення осіб, гіперчутливих до дії блеоміцину, викладено в наших попередніх публікаціях [3–5].

Цитогенетичними маркерами радіаційної дії вважали обмінні аберації хромосомного типу — нестабільні (дицентричні та кільцеві хромосоми) та стабільні (аномальні моноцентрики, які формуються за рахунок повних та неповних транслокацій, інверсій, інсерцій); індикаторами прихованої хромосомної нестабільності — одиночні та вільні парні ацентричні фрагменти.

У обстежених осіб визначали фонові та індуковані блеоміцином частоти хромосомних аберацій в культурі лімфоцитів периферичної крові. Фоновий цитогенетичний ефект в інтактних культурах використовували як критерій факту та інтенсивності опромінення за цитогенетичними маркерами радіаційної дії (нестабільними та стабільними абераціями хромосомного типу) [8]. Критерієм чутливості до кластогенної дії блеоміцину вважали додаток до фонові частоти хромосомних аберацій (надфонову/надспонтанну частоту) [3].

Від кожного обстеженого аналізували від 300 до 500 метафаз, що відповідали стандартним вимогам [8]. Всього проаналізували 57330 метафаз.

Результати та обговорення

Фонова середньогрупова частота всього спектру хромосомних аберацій в обстежених групах не перевищувала верхньої межі середньо-популяційного контролю (3,00 на 100 метафаз) і складала (1,23±0,20), (1,92±0,11), (2,54±0,20), (2,96±0,20) на 100 метафаз, відповідно.

Серед пошкоджень хромосом домінували прості аберації — одиночні та вільні парні фрагменти із середньогруповими частотами, що не перевищували популяційний рівень, характерний для спонтанного хромосомного мутагенезу в лімфоцитах периферичної крові людини [9].

В усіх обстежених групах виявлено певну кількість осіб із нестабільними та/чи стабільними обмінними абераціями хромосомного типу, частоти яких характеризувались значним міжіндивідуальним варіюванням. Максимальна зустрічальність індивідів (10 з 15 обстежених) з підвищеною частотою (0,20–3,60 на 100 метафаз) цитогенетичних маркерів опромінення спостерігалась в професійній групі 2 (УЛНА, хворі на РЛ), що підтверджує їх контакт з радіаційним фактором, скоріше всього, через участь у ліквідації наслідків Чорнобильської аварії. Середньогрупові частоти нестабільних та стабільних аберацій хромосомного типу в цій групі складали (0,34±0,07) та (0,17±0,05) на 100 метафаз, відповідно, що вірогідно ($p < 0,05$) перевищу-

вало такі, встановлені як в контрольній групі — $(0,11 \pm 0,06)$ та $(0,11 \pm 0,06)$ на 100 метафаз, відповідно, так і в професійній групі 1 УЛНА — $(0,07 \pm 0,02)$ та $(0,10 \pm 0,03)$ на 100 метафаз та в «непрофесійній» групі порівняння у осіб, хворих на РЛ — $(0,11 \pm 0,04)$ та $(0,08 \pm 0,03)$ на 100 метафаз, відповідно.

Наявність цитогенетичних маркерів радіаційної дії у деяких онкохворих, які не мали професійного контакту з іонізуючою радіацією, може бути пов'язана з діагностичними рентгенологічними обстеженнями легенів, що неодноразово проводилися при встановленні відповідного діагнозу [10].

Міжіндивідуальний розкид частоти хромосомних обмінів в обох професійних групах УЛНА свідчить про неоднорідність цих груп за радіаційним навантаженням і узгоджується з даними офіційної дозиметрії щодо факту опромінення, але ставить під сумнів коректність величин індивідуальних офіційних доз радіації, особливо в професійній групі 2, що встановлювалось нами і раніше при використанні методу FISH-WCP [11].

При використанні тесту «G₂-bleomycin sensitivity assay» для обстежених контингентів встановили достовірне підвищення цитогенетичного ефекту як у окремих осіб, так і по групах в середньому, яке було обумовлене зростанням частоти ацентричних фрагментів (переважно, хроматидного типу), які вважаються цитогенетичними маркерами хромосомної нестабільності.

Виявили значні міжіндивідуальні коливання цитогенетичного ефекту при тестуючій дії блеоміцину та, головне, відсутність позитивної кореляції поміж фоновими та індукованим частотами хромосомних аберацій, що виявлялось нами і раніше [4, 5] та ймовірно, обумовлено індивідуальною чутливістю до дії мутагену-провокатора.

Для порівняльної оцінки реакції хромосомного апарату осіб з обстежених груп на дію блеоміцину в залежності від радіаційного впливу на людину та стану її здоров'я (наявність чи відсутність онкологічної патології) використали 2 інтегральних критерія — відсоток осіб, гіперчутливих до дії блеоміцину, визначений за величиною коефіцієнту прихованої хромосомної нестабільності ($K_{\text{ПХН}}$, який при підвищеній чутливості до дії мутагенів-провокаторів перевищує 1), та середньогруповий додаток до фонові частоти хромосомних аберацій (надспонтанний рівень) в тесті «G₂ — bleomycin sensitivity assay».

На підставі величин $K_{\text{ПХН}}$ розраховали, що відсоток осіб з прихованою хромосомною нестабільністю становив:

- **33,3 %** в групі умовно здорових донорів, що відповідає середньопопуляційним даним і вважається генетично детермінованим феноменом [12];
- **46,7 %** в групі УЛНА, що ще раз засвідчує встановлену нами раніше можливість модифікації генетично зумовленої чутливості хромосом соматичних клітин людини до мутагенного навантаження *in vitro* внаслідок впливу іонізуючого випромінювання [4, 5];

• **53,3 %** в групі хворих на рак легенів, що підтверджує літературні дані щодо підвищення індивідуальної чутливості пацієнтів з реалізованою онкологічною патологією до дії мутагенів-провокаторів *in vitro* [6] і відповідає висновкам авторів роботи [13] щодо «вірогідної асоціації підвищеної частоти хромосомних розривів, індукованих блеоміцином *in vitro*, з підвищеним ризиком виникнення РЛ»;

• **66,6 %** в групі УЛНА, хворих на рак легенів, що дозволяє припустити обтяження прогнозу щодо реалізації онкопатології у гіперчутливих до дії блеоміцину осіб внаслідок індукції хромосомної нестабільності додатковим радіаційним впливом.

Аналогічні висновки можливо зробити і на підставі аналізу величин надфонового цитогенетичного ефекту (додатку до фонового рівня хромосомних аберацій), індукованого блеоміцином в обстежених групах. Максимальний відсоток осіб з прихованою хромосомною нестабільністю (66,6%) як і максимальний додаток до середньогрупової частоти аберацій хромосом (77,32 на 100 метафаз при концентрації блеоміцину 5,00 мкг/мл) виявили в професійній групі 2 — в УЛНА з діагнозом РЛ.

Висновки

Отримані результати не тільки підтвердили можливість радіаційно-індукованої модифікації генетично детермінованої чутливості хромосом соматичних клітин людини до тестуючого мутагенного навантаження блеоміцином, але й дозволили припустити існування асоціації між радіаційно-індукованим підвищенням генетично зумовленої індивідуальної чутливості до тестуючої мутагенної дії блеоміцину і реалізацією онкологічної патології у опромінених осіб, що вказує на доцільність використання тесту «G₂-bleomycin sensitivity assay» при обстеженні опромінених контингентів для визначення ПХН як одного з інформативних маркерів схильності до онкологічних захворювань.

Література

1. NOTE (Nontargeted effects of ionizing radiation). Integrated project 2006–2010. — Режим доступу: <http://www.note-ip.org>.
2. Au W. W. Mutagen sensitivity assays in population studies // *Mutat. Res.* — 2003. — Vol. 544, Iss. 2–3. — P. 273–277.
3. Цитогенетичний спосіб визначення прихованої хромосомної нестабільності в соматичних клітинах людини за допомогою тесту «G₂-bleomycin sensitivity assay: метод. рек. / Уклад. М. А. Пілінська, С. С. Дибський, О. Б. Дибська, Л. Р. Педан; Державна установа «Науковий центр радіаційної медицини АМН України». — К., 2008. — 25 с.
4. Дибський С. С., Дибська О. Б., Педан Л. Р., Пілінська М. А. Виявлення прихованої хромосомної нестабільності у осіб, постраждалих від дії факторів Чорнобильської аварії, за допомогою удосконаленого тесту «G2-bleomycin sensitivity assay // ДАН України. — 2009, № 11. — С. 191–195.

5. Пілінська М. А., Дибський С. С., Дибська О. Б., Педан Л. Р. Радіаційно-індукована модифікація чутливості хромосом соматичних клітин людини до тестуючої мутагенної дії блеоміцину *in vitro* // Цитология и генетика. — 2010. — Т. 44, № 2. — С. 58–64.

6. Spitz M. Mutagen sensitivity as a marker of cancer susceptibility // *Cancer Detect. Prev.* — 2005. — Vol. 19, № 1. — P. 35.

7. High Mutagen Sensitivity in Peripheral Blood Lymphocytes Predicts Poor Overall and Disease-Specific Survival in Patients with Stage III Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Radiotherapy and Chemotherapy / R. Chang, R. Komaki, Z. Sasaki *et al.* // *Clin. Cancer Res.* — 2005. — Vol. 11, № 8. — P. 2894–2898.

8. Дёмина Э. А., Пилинская М. А., Петунин Ю. И., Ключин Д. А. Радиационная цитогенетика: Русско-английский словарь-справочник. — К.: Здоров'я, 2009. — 367 с.

9. Чеботарев А. Н. Закономерности хромосомной изменчивости соматических клеток человека // *Вестник РАМН.* — 2001. — Т. 37, № 10. — С. 64–69.

10. Increased chromosome translocations are associated with ionizing radiation from diagnostic X-ray examinations: a pooled analysis of three studies / P. Bhatti, L. C. Yong, M. M. Doody *et al.* // *Radiation and Environmental Biophysics* (published online 7/20/10); DOI 10.1007/s00411-010-0307-z.

11. Опыт использования метода FISH для реконструкции индивидуальных доз облучения у ликвидаторов Чернобыльской аварии в рамках Украинско-Американского проекта «Лейкемия» / М. А. Пилинская, С. С. Дибский, Ю. Н. Скалецкий *и др.* // *Цитология и генетика.* — 2006. — Т. 40, № 3. — С. 34–39.

12. Mutagen sensitivity has high heritability: Evidence from a twin study / Wu Xifeng; M. R. Spitz, Ch. AMOS *et al.* // *Cancer Res.* — 2006. — Vol. 66, № 12. — P. 5993–5996.

13. Bleomycin-induced chromosome breaks as a risk marker for lung cancer: a case-control study with population and hospital controls / Yun-Ling Zheng, Christopher A. Loffredo, Zhipeng Yu *et al.* // *Carcinogenesis.* — 2003. — Vol. 24, No. 2. — P. 269–274.

Резюме

Виявлено асоціацію між радіаційно-індукованим підвищенням індивідуальної чутливості до тестуючого мутагенного навантаження та реалізацією канцерогенезу у опромінених осіб. Підтверджено доцільність використання тесту «G₂-bleomycin sensitivity assay» при цитогенетичному обстеженні опромінених контингентів для визначення схильності до онкопатології.

Виявлена асоціація между радиационно-индуцированным повышением индивидуальной чувствительности к тестирующему мутагенному воздействию и реализацией канцерогенеза у облученных лиц. Подтверждена целесообразность использования теста «G₂-bleomycin sensitivity assay» при цитогенетическом обследовании облученных контингентов для определения предрасположенности к онкопатологии.

The existence of association between radiation-induced increase of individual sensitivity to testing mutagenic exposure and realization of cancer in the irradiated persons had been revealed. The results obtained confirmed the feasibility of using «G₂-bleomycin sensitivity assay» at the cytogenetic examination of exposed contingents for detection predisposition to oncological pathology.

**ПОХОЛЕНКО Я. О., РАЧКОВА Л. Т., ГУЛЬКО Т. П., ШПИЛЕВАЯ С. П.,
РУБАН Т. А., КОРДЮМ В. А.**

*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,
Украина, 03680, Киев, ул.Заболотного, 150
e-mail: yasnenska@gmail.com*

СОЗДАНИЕ БИОДЕГРАДАТЕЛЬНЫХ МАТРИКСОВ ИЗ КОЛЛАГЕНА I ТИПА И ИЗУЧЕНИЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ *IN VITRO* И *IN VIVO*

Внедрение в практику экспериментальной биологии методов длительного культивирования клеток животных и человека, в особенности клеток-предшественников специализированных тканей, в значительной мере стимулировало исследования, направленные на разработку новых технологий и подходов для реконструктивной медицины. Создание биodeградебельных матриксов, которые могут использоваться как для культивирования клеток *in vitro* так и для имплантации в поврежденный орган или ткань *in vivo* является одним из перспективных направлений. Использование подобных матриксов позволяет избежать обработки ферментами, сопровождающей снятие клеток с поверхности стекла или пластика при культивировании, а также воссоздать *in vitro* максимально приближенные к естественным условия для роста и дифференцировки. Одним из перспективных материалов для изготовления биodeградебельных матриксов является коллаген. По сравнению с многими синтетическими материалами коллагеновые матриксы обладают следующими преимуществами: биосовместимость, поскольку он является естественным компонентом внеклеточного матрикса, продукты его деградации нетоксичны и имплантация не вызывает реакцию в организме на введение чужеродного тела.

Таким образом целью этой работы было создание биodeградебельных матриксов из коллагена I типа для культивирования мезенхимальных стволовых клеток, полученных из пуповины человека и изучение биологических свойств созданных матриксов.

Материалы и методы

Ателопептиды коллагена I типа выделяли из связок крупного рогатого скота путем протеолитического расщепления пепсином [1]. Предварительно материал промывали 70% изопропиловым спиртом, отделяли от сопутствующих тканей и измельчали. Измельченную ткань ресуспендировали в 0.5 М уксусной кислоте содержащей 1 г пепсина на 10 гр веса ткани и инкубировали 24 часа при 4 °С. По окончании инкубации проводили центрифугирование, добавляли к супернатанту хлорид натрия до конечной концентрации 0.8 М и инкубировали при +4 °С на протяжении 24 часов. Нерастворимую фракцию отделяли центрифугированием при 13 тыс. об./мин., после чего полученные осадки растворяли в 0.1 М уксусной кислоте. Высаливание хлоридом натрия повторяли еще 2 раза. Полученный после пос-

ледного растворения в 0.1 М уксусной кислоте белок анализировали с помощью гель-электрофореза по методу Лэммли в 10% СДС-ПААГ [1].

Получение матриксов. Матриксы-губки получали методом сублимационной (лиофильной) сушки. Для этого раствор 5 мг/мл коллагена I типа в 0.1 М уксусной кислоте помещали в чашки Петри диаметром 35 мм и замораживали при -40°C на протяжении 24 часов. Дальше образцы лиофилизировали в сублимационной сушке при -80°C на протяжении 3 дней до полного высыхания. Полученные матриксы хранили при -20°C .

Культуры клеток. Клетки сублинии CHO-K1 pro⁻ neo⁺ gfp⁺ th_{hv}⁺ hph⁺ [3] выращивали на питательной среде следующего состава: 90 % среды F10 (Sigma), 10 % эмбриональной сыворотки теленка (Sigma), 100 Ед/мл пенициллина та 100 мкг/мл стрептомицина. Для пересева клетки снимали с поверхности стекла 0.25 % раствором трипсина и 0.02 % раствором версена в соотношении 1:1 и рассевали в соотношении 1:4–1:15. На коллагеновый матрикс-губку высевали по 500 тыс. на губку размером 3x4x2 мм. Их культивировали одни сутки в среде с 5 % эмбриональной телячьей сывороткой. Через сутки губки переносили в среду без сыворотки и через 24 часа имплантировали экспериментальным животным.

Мезенхимальные стволовые клетки человека, полученные из Вартоновского геля пуповины, в количестве 700 тыс были посеяны на 4 идентичных губки из бычьего коллагена I типа. Размер губки составлял 3x4x2 мм. Культивирование проводили на питательной среде DMEM с 10 % эмбриональной сыворотки теленка (Sigma).

Имплантация коллагеновых матриксов лабораторным животным. В опыте использовались половозрелые мыши, (самки 2–2,5 мес. гестации) происходящие от линии ICR, длительно поддерживаемой путем инбредного размножения в виварии ИМБиГ НАН Украины. В асептических условиях приготовленные коллагеновые матриксы были имплантированы под кожу животным. Все манипуляции с животными проводились с использованием седативных и анестезирующих препаратов в соответствии с требованиями ветеринарного законодательства. Для введения данной композиции производили небольшой разрез на спине, приблизительно 1 см, слева от позвоночника после предварительной очистки кожи от шерсти и дезинфекции места разреза. Коллагеновый матрикс укладывали непосредственно в зону разреза при помощи хирургических инструментов. Рану ушивали послойно стерильными шелковыми нитками № 1. Общего токсического эффекта при имплантации экспериментальных форм коллагенового матрикса лабораторным животным не наблюдалось.

Определения антител, специфичных к коллагену I типа, в сыворотке крови мышей проводили методом ИФА.

Суммарную ДНК из тканей выделяли с помощью Genomic DNA purification kit (Fermentas, Литва), согласно рекомендациям фирмы-производителя. Детекцию фрагмента гена egfr проводили с помощью ПЦР. Про-

дукты амплификации разделяли с помощью гел-электрофореза в 0.8 % агарозном геле.

Флуоресцентная микроскопия проводилась на микроскопе МЛ-2 (ЛОМО, Россия) с использованием пары фильтров HQ 470/50 (exiter) и HQ525/50 (emitter) (Chroma Technology Corp., США). Светловая микроскопия проводилась на микроскопе МЛ-2 и инвертированном микроскопе LEICA DMIL (Leica, Германия). Конфокальная сканирующая микроскопия проводилась на системе CarlZeiss Laser Scanning System LSM 510 (CarlZeiss, Германия).

Результаты и обсуждение

Методом сублимационной (лиофильной) сушки были получены матриксы из выделенного нами коллагена I типа быка, размеры пор в которых варьировались в диапазоне от 150 до 200 мкм.

Было показано, что при подкожной имплантации созданных матриксов экспериментальным животным они сохраняются в месте имплантации как минимум на протяжении 2 мес. Также следует отметить, что имплантация матрикса не индуцирует развитие гуморального иммунного ответа на коллаген I типа. Животные оставались серонегативными на протяжении всего срока наблюдения (2 мес).

При культивировании мезенхимальных стволовых клеток человека, полученных из Вартоновского геля пуповины на коллагеновых матриксах не наблюдалось преимущественной колонизации поверхности матриксов. Клетки располагались как на поверхности так и мигрировали в толщу губки. При культивировании на протяжении 21 суток в полной ростовой среде наблюдалось формирование в толще матрикса сфероподобных структур, состоящих из клеток и внеклеточных агрегатов, возможно белковой природы (рис. 1).

Можно предположить, что данные структуры формируются за счет преимущественной миграции клеток в определенные зоны в середине матрикса.

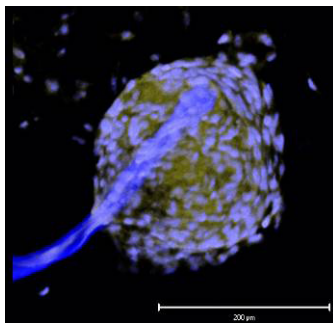


Рис. 1. Мезенхимальные стволовые клетки человека культивированные на матриксе из коллагена I типа на протяжении 21 суток. Окраска DAPI+ThRed

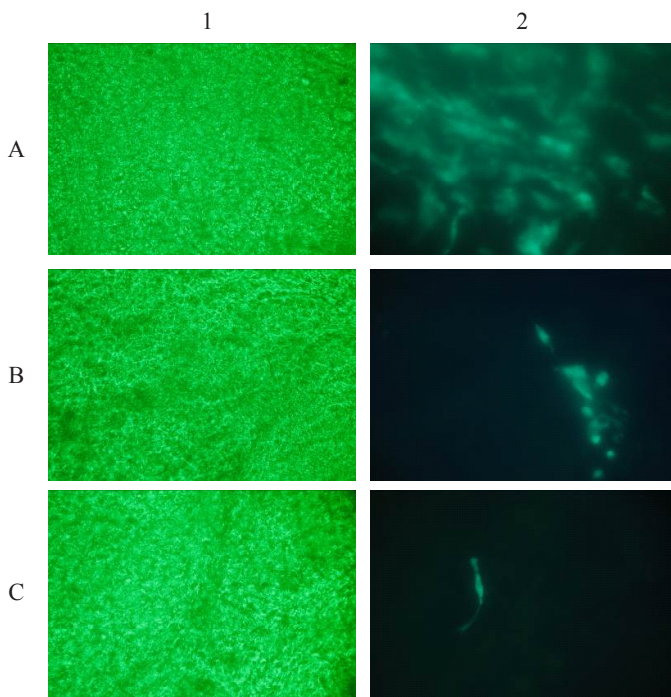


Рис. 2. Клетки сублинии CHO-K1 $pro^- neo^+ gfp^+ th_{hv}^+ hph^+$ на коллагеновом матриксе до (А) и после подкожной имплантации мышам линии ICR:

В — через 6 суток, С — через 10 суток.

1 — световая микроскопия; 2 — люминисценция. X140.

Основной задачей на следующем этапе работы было исследование продолжительности существования ксеногенных клеток на матриксе в организме иммунокомпетентного животного при подкожной имплантации. Было показано, что клетки сублинии CHO-K1 $pro^- neo^+ gfp^+ th_{hv}^+ hph^+$ детектируются в месте введения на протяжении 10 суток после подкожной имплантации мышам линии ICR (рис. 2). На 14 сутки после имплантации клетки на матриксе отсутствовали. Полученные с помощью микроскопии данные были подтверждены детекцией последовательности гена *egfp* методом ПЦР.

Литература

1. Zeugolis D.I., Li B., Lareu R.R., Chan C.K., Ragunathi M. Collagen solubility testing, a quality assurance step for reproducible electro-spun nano-fibre fabrication. A technical note // J. Biomater. Sci. Polymer Edn. — 2008. — Vol. 19, No. 10. — P. 1307–1317.
2. Sambrook J., Fritsch E.E., Maniatis T. Molecular cloning // Cold Spring Harbor Laboratory press. — 1989. — 625 p.

3. Kordyum V. A., Toporova E. K., Okunev O. V., Pokholenko Y. A., Suchorada E. M., Ruban T. A., Andrienko V. I., Irodov D. M. Novel cell line with multiple markers, derivative of CHO-K1 // Biopolymers and cell. — 2003. — V. 19, N 3. — P. 252–257.

Резюме

В ходе выполнения работы были созданы коллагеновые матриксы из коллагена I типа быка. Было продемонстрировано, что мезенхимальные стволовые клетки человека, полученные из Вартоновского геля пуповины, колонизируют созданные матриксы и, после культивирования на протяжении 21 суток, образуют сфероподобные структуры. Также было показано, что при подкожной имплантации экспериментальным животным, созданные матриксы определяются в месте введения как минимум на протяжении 2 мес, а при имплантации матриксов, заселенных клетками сублинии CHO-K1 pro⁺ neo⁺ gfp⁺ th_{hv}⁺ hph⁺, клетки детектируются в месте введения на протяжении 10 суток.

В процесі виконання роботи були створені колагенові матрикси з колагену I типу бика. Було продемонстровано, що мезенхімальні стовбурові клітини людини, одержані з желе Вартона пуповини, колонізують створені матрикси та, після культивування протягом 21 доби утворюють сфероподібні структури. Також було продемонстровано, що при підшкірній імплантації експериментальним тваринам створені матрикси визначаються в місці введення як мінімум протягом 2 місяців, а при імплантації матриксів, заселених клітинами сублінії CHO-K1 pro⁺ neo⁺ gfp⁺ th_{hv}⁺ hph⁺, клітини детектуються в місці введення протягом 10 діб.

In present study we have developed collagen matrices from bovine collagen type I. It had been shown that human mesenchymal stem cells isolated from cord Wharton jelly, colonized the developed matrices, and formed spherical structures within the matrix 21 days after seeding. The developed matrices retained at the place of administration at least for 2 month after subcutaneous implantation in experimental animals. And the cells of a subline CHO-K1 pro⁺ neo⁺ gfp⁺ th_{hv}⁺ hph⁺ were detected for 10 days at the place of implantation of matrices colonized with the cells.

СЄДНЄВА І. А., ГУЛЕЮК Н. Л., БЕЗКОРОВАЙНА Г. М., ТКАЧ І. Р.

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»,

Україна, 79008, Львів, вул. Лисенка 31-а, e-mail: huleyuk@yahoo.com

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ МАТЕРІАЛУ ВТРАЧЕНИХ ВАГІТНОСТЕЙ У ЗАХІДНОМУ РЕГІОНІ УКРАЇНИ

Невиношування вагітності — одна з найпоширеніших проблем сучасної репродуктології. Вважається, що 15–25 % вагітностей закінчуються самовільним викиднем [1]. Невиношування вагітності набуває великого соціального та медичного значення, оскільки має негативний вплив на показники перинатальних втрат та живонароджуваності, які визначають демографічну ситуацію.

Встановлення причини порушення вагітності — важливе і важке завдання. Особливої уваги заслуговує навикове невиношування вагітності. Вірогідність повторного викидня після першого самовільного перериван-

ня вагітності складає 20–25 %, після двох послідовних викиднів — 30–35 % [1]. Генетичні відхилення є головною причиною порушення протікання вагітності та її переривання, серед них домінують геномні та хромосомні порушення ембріона/плода — 60–80 % випадків. Це обумовлено високою частотою чисельних хромосомних аномалій в статевих клітинах людини: 1–2 % в сперматозоїдах, в ооцитах — біля 20 % [2]. Тому часто при заплідненні утворюється зигота з аномальним каріотипом. До 95 % зачатъ з ХА перериваються до моменту встановлення вагітності [3]. Внаслідок дії факторів природного добору, які обумовлюють елімінацію більшості зачатъ із аномаліями хромосом на доімплантаційному періоді та протягом 1-го триместру вагітності частота анеуплоїдій серед мертвороджених плодів складає 4 %, серед живонароджених — лише 0,3 % [4].

Структура хромосомної патології при репродуктивних втратах стабільна, а спектр ХА у самовільних викиднів (СВ) істотно відрізняється від спектру у новонароджених. Найбільший відсоток ХА становлять трисомії — 50–60 %, поліплоїдії — 20–25 %, моносомії — 10–15 %, структурні аномалії — 5 % [5, 6]. Серед СВ найвищий відсоток трисомій зустрічається по 16, 22, 21, 15, 13, 18 хромосомах в порядку спадання [7]. Особливої уваги заслуговують хромосоми 7, 8, 9, для яких відмічена трохи підвищена, порівнюючи з іншими хромосомами групи С, частота трисомій в матеріалі самовільних викиднів. Випадки трисомії хромосом 7, 8, 9 не зафіксовані пренатально і у новонароджених, що свідчить про сублетальний ефект надлишку генетичного матеріалу цих хромосом. На післяімплантаційних стадіях розвитку не зареєстровано випадків трисомій хромосом 1 і 19 [8, 9]. У спонтанних викиднях до 10-го тижня вагітності достатньо висока частота подвійних і потрійних трисомій по різних хромосомах. В більшості випадків подвійні трисомії, незалежно від задіяних хромосом, є летальні.

Єдина форма моносомії, яка сумісна з внутрішньоутробним та постнатальним розвитком — моносомія Х. Вважається, що 95 % зачатъ з такою патологією елімінується протягом першого триместру вагітності. Серед самовільних викиднів частота гоносомної моносомії 45, Х є найвищою і становить 10–15 %.

Поліплоїдія сумісна з внутрішньоутробним розвитком у людини лише у вигляді триплоїдії 69, XXX і 69, XXУ. У більшості випадків такі зміни геному викликають порушення вагітності, про що свідчить той факт, що майже кожен 10-й СВ є триплоїдним.

Вагітність, яка не розвивається, зустрічається у вигляді анембріонії та замерлої вагітності (ЗВ). Існують істотні відмінності в причинах загибелі ембріону. Для спорадичних випадків ЗВ характерна дія в основному хромосомних, імунних, екзогенних факторів.

За даними ембріологів і патоморфологів, у 90 % вагітностей, які зупинилися в розвитку на першому місяці вагітності (3–4 тижні), спостерігають

пусті плідні мішки без ембріону, тобто анембріонії. Найчастіше відсутність ембріону спостерігається у випадку загибелі трофобласта в процесі імплантації бластоцисти в ендометрій або, значно рідше, протягом 1–2 тижнів після неї. Частота хромосомної патології при анембріонії висока і складає 65–70 % [5, 7].

Прямі дані про вплив ендо- та екзогенних факторів на виникнення ХА у людини досить обмежені. Вік матері — одна з небагатьох встановлених причин, які впливають на частоту анеуплоїдії у потомства. Постулат про залежність частоти трисомії 21 хромосоми від віку матері, проголошений відомим англійським генетиком Penrose ще в 1933 році, знайшов своє підтвердження в багаточисельних дослідженнях [10,11]. Для трисомії 16, 13, 18 хромосом показана лінійна залежність від віку матері [10,11]. Припускають, що вікові гормональні зміни можуть прискорювати процес мейотичного дозрівання ооцитів і бути причиною аномальної сегрегації хромосом. Варто відзначити, що для анеуплоїдій по інших аутосомах, для триплоїдій зокрема, залежність від віку матері не встановлена. Підвищений ризик народження дітей з хромосомними хворобами встановлений не тільки для жінок старшого репродуктивного віку, але і для жінок у віці до 20 років [12, 13]. Можна припустити, що підвищена частота нерозходження хромосом в ранньому репродуктивному віці обумовлена більш різкими коливаннями вмісту статевих гормонів на різних фазах менструального циклу

Матеріал та методи

Приготування препаратів хромосом з ворсин хоріону проводили згідно методики [14] з деякими модифікаціями. Для отримання метафазних хромосом використовували як «прямий», так і «напівпрямий» метод, який полягає у інкубації ворсин хоріону у поживному середовищі RPMI 1640 фірми «Gibco» протягом 16–18 годин [15]. З метою отримання середньомітотичних хромосом одночасно з колхіцином 1 мкг/мл вводили бромистий етидій в концентрації 10 мкг/мл середовища. Для обробки ворсин використовували гіпотонічний розчин (0,55 % KCl і 1 % розчин цитрату натрію у співвідношенні 1:3) і етанол-оцтовий фіксатор (співвідношення 3:1). Мацерацію ворсин проводили в 40 % оцтовій кислоті. Препарати метафазних хромосом готували методом, запропонованим Барановим В. С. [16]. Препарати витримували до наступного дня в термостаті TC-80 при +65 °C та забарвлювали GTG- або CBG-методами [17]. За допомогою світлового мікроскопа аналізували максимально отриману кількість метафазних пластин задовільної якості при збільшенні $\times 1000$. І

Результати та обговорення

Досліджували матеріал (ворсини хоріону/плаценти) 102 перерваних вагітностей, серед яких у 99 випадках діагностували завмерлу вагітність (ЗВ), а у 3 — самовільне переривання вагітності. Каріотип отриманий у 50 випадках (49%), з них у 1 випадку — у самовільному викидні. Се-

ред досліджених випадків гоносомний набір XY (36 випадків) переважав над XX (14 випадків).

Геномні та хромосомні аномалії встановили у 25 випадках (50%): триплодія у 14 випадках (28%), аутосомні трисомії — у 9 (18%) та гоносомні трисомії 47, XXУ — у 2 (4%). Аутосомні трисомії виявили у вигляді трисомії по 2-й хромосомі (1 випадок), 16-й (3 випадки), 19-й (1 випадок), 20-й (1 випадок, спонтанне переривання вагітності) та 22-й (3 випадки). Цікавою знахідкою стало визначення мозаїцизму по 20-й хромосомі при триплодії — 70, XXX,+20/69, XXX.

Отже, отримані результати свідчать про вагомий внесок змін каріотипу у структуру репродуктивних втрат, зокрема самовільних викиднів і замерлих вагітностей. Встановлення каріотипу в матеріалі перерваних вагітностей є надзвичайно важливим для правильного планування і тактики ведення наступної вагітності.

Висновки

1. При дослідженні матеріалу замерлих та самовільно перерваних вагітностей каріотип отримано у 49% випадків.

2. Геномна та хромосомна патологія встановлена у 50%. Триплодія переважала над аутосомною та гоносомною трисомією — 28%, 9% та 4% відповідно.

3. Серед трисомій аутосом найчастіше зустрічалися трисомії 16-ї (6%) та 22-ї (6%) хромосом.

4. Присутність Y-хромосоми у 72% випадків свідчить про перевагу чоловічої статі в матеріалі втрачених вагітностей.

Література

1. *Ф. Карр, Х. Рициотти, К. Фройнд, С. Кахан* Акушерство, гинекология и здоровье женщины / Ф. Карр, Х. Рициотти, К. Фройнд. — М., «МЕДпресс-информ», 2005. — С. 60.
2. *Be C.* Spontaneous abortion: cytogenetic study of 609 cases / C. Be, P. Velasquez, R. Youlton // *Rev Med Chil.* — 1997. — Vol. 125. — P. 317–322.
3. *Delhanty J.* The origin of genetic defect in the human and their detection in the preimplantation embryo / J. Delhanty, A. Handyside // *Hum.Rep.Update.* — 1995. — Vol. 1. — P. 201–215.
4. *Hassold T.* To error (meiotically) in human: the genesis of human aneuploidy / T. Hassold, P. Hunt // *Nat. Rev. Genet.* — 2001. — Vol. 2. — P. 280–291.
5. *Jacobs P.* The origin of numerical chromosome abnormalities / P. Jacobs, T. Hassold // *Adv. Genet.* — 1995. — Vol. 33. — P. 101–133.
6. *Бочков Н.П.* Клиническая генетика / Н.П. Бочков // М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. — 448 с.
7. *Yurov Y.B.* Original collection of DNA probes for preimplantational, fetal prenatal and postnatal diagnosis of chromosomal analysis by FISH / Y.B. Yurov, S.G. Vorsanova, I.V. Soloviev [et al.] // *In Early Prenatal Diagnosis, Fetal Cells and DNA in Mother: Present State and Perspectives.* Edited by: Macek M Sr, Bianchi D, Cuckle H. — Prague: The Karolinum Press; 2002. — P. 275–283.

8. Philipp T. Transcervical embryoscopy in missed abortion / T. Philipp, D.K. Kalousek // *Jornal of assisted reproduction and genetics*. — 2001. — Vol. 18, N 5. — P. 285–289.

9. Philipp T. Neural tube defects in missed abortion / T. Philipp, D.K. Kalousek // *Amer. J. of Med. Genet.* — 2002. — Vol. 107. — P. 52–57.

10. Griffin D.K. The incidence, origin and etiology of aneuploidy / D.K. Griffin // *Int. Rev. Cytol.* — 1996. — Vol. 167. — P. 263–295.

11. Jacobs P. The origin of numerical chromosome abnormalities / P. Jacobs, T. Hassold // *Adv. Genet.* — 1995. — Vol. 33. — P. 101–133.

12. Бочков Н.П. Клиническая генетика // Учебник / Бочков Н.П. — 3-е изд., испр. и доп. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. — 480 с.

13. Давиденкова Е.Ф. Увеличение частоты и риска рождения детей с болезнью Дауна в Ленинграде / Е.Ф. Давиденкова [и др.] // *Генетика*. — 1994. — Т. 30, № 2. — С. 105–110.

14. Зерова-Любимова Т.Е. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини / Т.Е. Зерова-Любимова, Н.Г. Горovenko // *Методичні рекомендації*. — К., 2003. — 17 с.

15. Metaxotani A. Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities from chorionic biopsy samples: improved success rate using a modified direct method / A. Metaxotani [et al] // *Prenat. Diagn.* — 1987. — Vol. 7, N 9. — P. 461–470.

16. Баранов В.С. Метод-стригивания-отпечатывания — простой и надежный способ приготовления прямых хромосомных препаратов из хориона / В.С. Баранов // *Цитология*. — 1989. — Т. 31, № 2. — С. 251–253.

17. Спосіб отримання препаратів метафазних хромосом із культури амніоцитів / Гулеюк Н.Л., Заставна Д.В., Безкоровайна Г.М., Акопян Г.Р. (Деклараційний патент на винахід UA 58404 A), Бюл. № 7. — 2003.

Резюме

При використанні традиційних цитогенетичних методів дослідження матеріалу 102 завірених та спонтанно перерваних вагітностей кариотип отримано в половині випадків. Присутність Y-хромосоми у 72% випадків свідчить про перевагу чоловічої статі в матеріалі втрачених вагітностей. Триплоїдія переважала над аутосомною та гоносомною трисомією. Серед трисомій аутосом найчастіше зустрічалися трисомії 16-ї та 22-ї хромосом.

При використанні стандартних цитогенетических методів дослідження матеріала завірених вагітностей та спонтанних абортів кариотип встановлено в половині випадків. Наявність Y-хромосоми в 72% випадків свідчить про перевагу чоловічої статі в матеріалі втрачених вагітностей. Триплоїдія переважала над аутосомною та гоносомною трисомією. Серед трисомій аутосом найчастіше зустрічалися трисомії 16-ї та 22-ї хромосом.

Conventional methods of cytogenetic investigation of material from 102 missed abortions produce results in half of the cases. Presence of Y chromosome in 72% of incidents shows prevalence of male gender in affected pregnancies. Triploidy was predominant followed by autosomal and gonosomal trisomy. Among autosomal trisomies, chromosomes 16 and 22 were prevalent.

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОКАЗНИКИ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ У ЧОЛОВІКІВ, ЩО ПРОЖИВАЮТЬ НА РАДІАЦІЙНО ЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЯХ, ТА КУРЦІВ

В наш час, крім підвищення рівня безплідних шлюбів, який в деяких країнах сягає 20 %, існує ще тенденція до зростання питомої ваги саме «чоловічого фактора» в загальній структурі непліддя. Якщо кілька десятиліть назад частка «чоловічої інфертильності», як причини безплідного шлюбу, складала від 15 % до 20 %, то зараз наводять цифри 30–40 % і більше, і цей рівень продовжує зростати [1]. Аналіз динаміки показників спермограм починаючи з 30-х років минулого століття показав їх неухильне погіршення. На основі отриманих даних було зроблено висновок про загальне погіршення сперматогенної функції чоловіків за останні 50 років. Саме цим пояснюється поступове зменшення параметрів «нормальної» спермограми, встановлених, зокрема, ВООЗ. Так нормативний показник концентрації сперматозоїдів в еякуляті з 60 млн/мл (50–70 роки ХХ століття) зменшився до 20 млн/мл у теперішній час. Більшість авторів пов'язує погіршення показників сперматогенезу впливом антропогенного забруднення зовнішнього середовища [2]. Аварія на Чорнобильській АЕС ще більше ускладнила існуючу екологічну ситуацію. Внаслідок аварії значна частина населення України протягом останніх 25 років проживає на територіях, забруднених радіонуклідами, що може впливати на стан репродуктивної системи. Відомо, що мутагени навколишнього середовища здатні індукувати мутації як в соматичних, так і в статевих клітинах. Відомо також, що чоловіча статева система є однією з найбільш чутливих до іонізуючого випромінювання, оскільки для неї характерний високий рівень проліферації клітин. При обстеженні ліквідаторів аварії на Чорнобильській АЕС, що отримали середні дози опромінення в межах 6,5–23,8 сГр, у половини з них були виявлені олігоспермія і тератозооспермія як віддалені наслідки дії радіаційного фактора [3]. Аналіз літератури показав, що наслідки хронічного впливу малих доз іонізуючого випромінювання на репродуктивну функцію людини, зокрема при проживанні на забруднених радіонуклідами територіях, досліджені недостатньо, а отримані дані є неоднозначними і навіть суперечливими. Відомо, що хронічна тютюнова інтоксикація також є чинником, що може негативно впливати на морфофункціональні характеристики сперми. Сперматозоїди курців характеризуються значним збільшенням (в 4 рази) рівня хромосомних аномалій. Крім того, у них відмічається знижена акросомна реакція [4]. Все це призводить до зниження їх запліднюючої здатності. Враховуючи той факт, що число чоловіків-курців сягає 60 % [2], паління на сьо-

годнішній день може бути суттєвим фактором, що негативно впливає на чоловічу фертильність.

Метою даної роботи було дослідження морфофункціональних особливостей сперматогенезу у чоловіків, що перебувають у безплідному шлюбі, при цьому проживають на забруднених радіонуклідами територіях, або мають шкідливу звичку паління.

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження були дані спермограм чоловіків, що звертались в клініку з приводу безпліддя у шлюбі. Перед отриманням еякулята проводилось їх анкетування. В анкеті вказувались вік пацієнта, місце постійного проживання, а також наявність шкідливої звички паління з зазначенням кількості сигарет на день. Еякулят отримували в лабораторії з урахуванням усіх необхідних умов для отримання об'єктивних результатів аналізу. При лабораторному аналізі еякулята визначали наступні показники: об'єм сперми, її рН, концентрацію сперматозоїдів в 1 мл., загальну кількість сперматозоїдів в еякуляті, рухливість сперматозоїдів, їх морфологію. Діагноз за показниками аналізу еякулята (*нормозооспермія, олігозооспермія, астенозооспермія, тератозооспермія, олігоастенотератозооспермія, азооспермія, аспермія*) визначали у відповідності з класифікацією показників еякулята ВООЗ [5]. На основі аналізу отриманих анкет були відібрані 2 групи чоловіків для дослідження морфофункціональних характеристик сперматогенезу за умови дії таких чинників, як хронічне низькодозове опромінення (проживання на забруднених радіонуклідами територіях, 1-а гр. — 38 осіб), та тютюнопаління (2-а гр. — 113 осіб), а також група чоловіків, що виключала дію вказаних чинників (3-я гр. — 110 осіб) — группа порівняння. Чоловіки 1-ї групи були жителями населених пунктів Київської, Житомирської, Вінницької, Рівненської та Черкаської областей. Рівень забруднення ґрунту за радіоактивним цезієм в цих населених пунктах знаходився межах 70–185 кБк/м² за даними загальнодозиметричної паспортизації населених пунктів України, які зазнали радіоактивного забруднення після Чорнобильської аварії [6]. До 2-ї та 3-ї груп увійшли жителі переважно південних міст і сіл України: міста Полтави та сіл Полтавської, Миколаївської областей, міст Одеса, Ізмаїл, Херсон, Бердянськ, Скадовськ та Сімферополь. Отримані дані статистично опрацьовані за допомогою комп'ютерної програми “Статистика”; достовірність різниці між різними групами визначали за критерієм Ст'юдента.

Результати та обговорення

Як видно з рис. 1, лише (40±4,3)% чоловіків контрольної групи мали нормозооспермію, тобто нормальний еякулят у відповідності з нормативними значеннями спермограм.

Найбільш значущим порушенням сперматогенезу в цій групі була астенозооспермія (зниження рухливості — менше 50% рухливих сперматозоїдів) — (26,4±4,2)% чоловіків. На другому місці — (10,9±2,9)% — оліго-

Розподіл чоловіків 1-ї та 3-ї груп за діагнозом
на основі спермограми

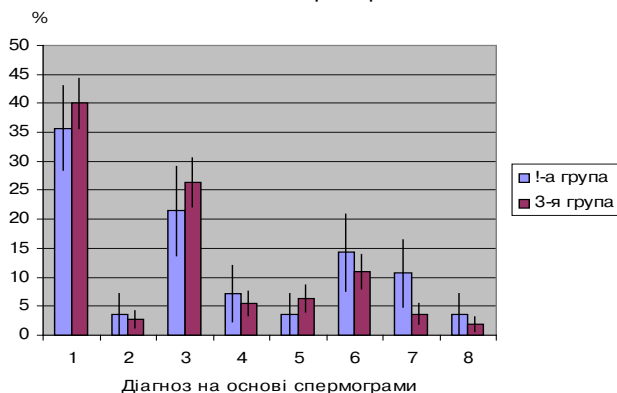


Рис. 1. Розподіл чоловіків 1-ї та 3-ї груп за класифікацією показників еякулята: 1 — нормозооспермія, 2 — олігозооспермія, 3 — астенозооспермія, 4 — астенотератозооспермія, 5 — азооспермія, 6 — олігоастенотератозооспермія, 7 — олігоастенозооспермія, 8 — поліспермія

астенотератозооспермія, тобто поєднання показників концентрації, рухливості та морфології, що були нижче норми. Таким чином, в групі чоловіків, що звернулись до клініки з приводу безпліддя у шлюбі, проживали на чистих територіях і не мали звички паління, лише 40% мали нормальні морфофункціональні показники сперматогенезу. Всі інші чоловіки цієї групи (60%) мали всі види порушень та їх комбінації, аж до повної відсутності сперматозоїдів, на першому місці з яких було зниження рухливості спермій нижче нормативних значень (астенозооспермія). Такий досить високий рівень субнормальних показників сперматогенезу в описуваній групі чоловіків можна пояснити тим, що всі вони перебували у безплідному шлюбі, де за останніми даними частка чоловічого безпліддя сягає більш ніж 40% [2]. При обстеженні чоловіків з доказаною фертильністю протягом 20 років спостерігали зниження всіх класичних параметрів якості сперми, причому концентрація сперматозоїдів знижувалась на 3,3% з кожним роком життя. При порівнянні 1-ї (жителів забруднених територій) та 3-ї (жителів чистих територій) груп за часткою чоловіків з певними показниками спермограми не було виявлено достовірно значущої різниці між досліджуваними групами. Лише один показник спермограми достовірно відрізнявся у чоловіків цих груп — це об'єм еякулята, який був більший в групі жителів забруднених територій ($3,8 \pm 0,3$ проти $2,9 \pm 0,1$; $p \leq 0,01$). Аналіз анкет показав, що частка курців серед пацієнтів складала 54%. Групу чоловіків, що мали шкідливу звичку паління та викурювали більше 10 сигарет на день, склали

113 осіб, середній вік яких дорівнював $33,9 \pm 0,6$ року і достовірно не відрізнявся від середнього віку у двох інших групах.

На рисунку 2 представлена порівняльна діаграма 2-ї групи чоловіків (курців) та чоловіків контрольної групи за діагнозом на основі спермограми.

Як видно з діаграми, частка чоловіків-курців з нормозооспермією була достовірно меншою, ніж частка чоловіків контрольної групи з нормальними показниками спермограми ($31,9 \pm 2,9\%$ проти $40,0 \pm 2,7\%$ відповідно, $p < 0,05$). При цьому достовірно більшою була частка чоловіків-курців з поєднаним зниженням концентрації та рухливості сперматозоїдів (олігоастенозооспермією) у порівнянні з контрольною групою ($8,8 \pm 2,6\%$ проти $3,6 \pm 1,7\%$ відповідно, $p < 0,05$).

Порівняння такого показника, як концентрація спермій в 1 мл, показало, що вона була достовірно нижчою в групі чоловіків-курців ($45,1 \pm 3,6\%$ проти $56,7 \pm 4,8\%$ відповідно, $p < 0,05$), а частка нерухливих сперматозоїдів в цій групі була достовірно більшою у порівнянні з чоловіками, що не палють ($43,7 \pm 1,6\%$ проти $39,9 \pm 1,6\%$ відповідно, $p < 0,05$). Всі інші морфофункціональні показники сперматогенезу у двох досліджуваних групах чоловіків достовірно не відрізнялись. Таким чином, отримані нами дані цілком співпадають з наведеними в літературі даними про те, що паління пов'язано зі значним зменшенням щільності сперми, загальної кількості сперматозоїдів

Розподіл чоловіків 2-ї та 3-ї груп за діагнозом на основі спермограми

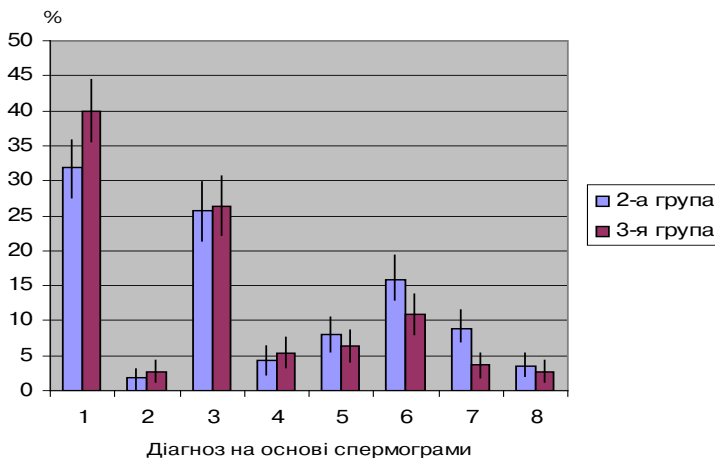


Рис. 2. Розподіл чоловіків 1-ї та 3-ї груп за класифікацією показників еякулята: 1 — нормозооспермія, 2 — олігозооспермія, 3 — астенозооспермія, 4 — астенотератозооспермія, 5 — азооспермія, 6 — олігоастенотератозооспермія, 7 — олігоастенозооспермія, 8 — поліспермія

та загальної кількості рухливих сперматозоїдів. При цьому відсоток морфологічно нормальних сперматозоїдів був значно знижений. Менше негативному впливу тютюнопаління піддавались такі показники, як об'єм та рН еякулята, а також життєздатність сперматозоїдів [4].

Висновки

Порівняння двох груп чоловіків, що проживають на забруднених (1-а група) та умовно чистих територіях (3-я група) за показниками спермограми показало достовірно більший об'єм еякулята у чоловіків 1-ї групи. Всі інші показники спермограми достовірно не відрізнялись.

В групі курців кількість чоловіків з нормальними показниками спермограми була достовірно меншою у порівнянні з контролем. Аналіз даних спермограм показав достовірне зниження концентрації та рухливості сперматозоїдів у чоловіків-курців у порівнянні з чоловіками, що не палять.

Література

1. Быков В. Л. Сперматогенез у мужчин в конце XX веков // Проблемы репродукции. — 2000. — № 1. — С. 6–13.
2. Никитин А. И. Вредные факторы среды и репродуктивная система человека (ответственность перед будущими поколениями). — Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб, 2008. — 236 с.
3. Ушаков И. Б., Солдатов С. К., Абрамов М. М. Репродуктивный статус авиационных специалистов — ликвидаторов аварии на Чернобыльской АЭС // Медиц. труда и пром. экология. — 1999. — № 3. — С. 32–36.
4. R. Kunzle et al. Semen quality of male smokers and nonsmokers in infertile couples // Fertil. Steril. — 2003. — V. 79, N 2. — P. 287–291.
5. Долгов В. В. и др. Лабораторная диагностика мужского бесплодия. — М.: Трида, 2006. — 146 с.
6. Ліхтарьов І. А. та ін. Загально дозиметрична паспортизація населених пунктів України, які зазнали радіоактивного забруднення після Чорнобильської аварії. Збірка. — К.: МНС України; НЦРМ АМНУ; ІРЗ АТН України, 2005. — 57 с.

Резюме

Представлені результати порівняльного аналізу показників сперматогенезу трьох груп чоловіків: жителів радіаційно забруднених територій (1 гр.), жителів умовно чистих територій чоловіків-курців (2 гр.) та тих, що не палять (3 гр.). Показано збільшення об'єму еякулята у чоловіків 1 гр., а також зниження концентрації та рухливості сперматозоїдів у чоловіків 2 гр. у порівнянні з чоловіками 3 гр.

Представлены результаты сравнительного анализа показателей сперматогенеза трех групп мужчин: проживающих на радиационно загрязненных территориях (1 гр.), и проживающих на условно чистых территориях курильщиков (2 гр.) и некурящих (3 гр.). Показано увеличение объема эякулята у мужчин 1 гр., а также снижение концентрации и подвижности сперматозоидов у мужчин 2 гр. по сравнению с мужчинами 3 гр.

We present the results of comparative analysis of spermatogenesis parameters of three groups of men: living in radiation-contaminated areas (1 gr.), smokers living in relatively clean areas (2 gr.) and nonsmokers (3 gr.). An increase in ejaculate volume in men 1 gr., as well as reduced concentration and sperm motility in men 2 gr. compared to men 3 gr. was shown.

**СУХОРАДА Е. М.¹, КОЛОМИЕЦ Ю. Н.¹, БОШИЦКАЯ Н. А.²,
УВАРОВА И. В.², ГРИПИЧ О. А.^{1,3}, ЛУКАШ Л. Л.¹**

¹ *Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,
03143, Киев, ул. Ак. Заболотного, 150*

² *Институт проблем материаловедения им. Францевича НАН Украины,
03068, Киев, ул. Кржижановского, 3*

³ *Национальный технический университет Украины «КПИ»
03056, Киев, пр. Победы, 37, e-mail: oksana_ga@ukr.net*

ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОДИСПЕРСНЫХ ПОРОШКОВ ЖЕЛЕЗА НА КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА

Наномедицина — это бурно развивающаяся область медицинских знаний, посвященная совершенствованию профилактики, диагностики и лечения заболеваний с помощью нанотехнологии [1]. Формирование концепции наномедицины началось еще в середине XX в., когда в 1959 г. Ричард Фейнман опубликовал свою лекцию под названием «Там, внизу, много места», в которой он обосновал основные принципы использования нанотехнологии в медицине, их можно разделить на три основные группы:

- 1) терапевтические подходы;
- 2) диагностические наномедицинские процедуры;
- 3) использование наноматериалов для изготовления различных изделий медицинского назначения.

Например, для терапевтического подхода в медицине наноматериалы используют для адресной доставки лекарственных средств в определенный тип клеток, в отдельные клетки или субклеточные структуры.

Активное внедрение наноматериалов в клиническую практику требует знания потенциальных рисков и побочных эффектов, сопряженных с использованием этих материалов [1,4,6,8].

Целью данной работы является определение цитотоксического действия нанодисперсных порошков на основе оксида железа на клетки человека.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования выбраны порошки:

— карбонильного железа, ТУ 6-09-3000-78, полученного термическим разложением пентакарбонила железа согласно уравнению: $\text{Fe}(\text{CO})_5 = \text{Fe} + 5 \text{CO}$;

— карбонильного железа, ТУ 6-09-3000-78, размолотого в течение 30 мин с помощью мельницы нового типа;

— полученные методом разложения/восстановления солей лимонной кислоты (цитратов) при температуре 450 °С с пролонгированной выдержкой (8 час) в защитной среде водорода;

— полученные методом разложения/восстановления оксидов железа в двухступенчатом режиме (I этап — 450 °C 2 час; II — 830 °C 1,5 час). Для увеличения восстановительной активности газовой атмосферы в исходный оксид железа добавляли сажу (необходимое количество сажи рассчитывали по химической реакции). Охлаждение полученных порошков проводили в атмосфере особо чистого азота (O_2 —0,001 %).

Размол порошков карбонильного железа проводили с использованием мельницы нового типа, разработанной и изготовленной в Институте проблем материаловедения НАН Украины. Время размол составляло 30 мин.

Цитотоксическое действие порошков на клетки определяли с помощью МТТ-теста. Метод основан на способности дегидрогеназ живых клеток восстанавливать неокрашенные формы МТТ-реагента до голубого кристаллического формазана [2]. В мертвых клетках это превращение не происходит. Формазан может быть элюирован из клеток с помощью органических растворителей.

Оптическая плотность элюатов при длине волны 570 нм прямопропорциональна количеству активно метаболизирующих клеток.

Тестирование порошков проводили с использованием клеток линии 4BL6, которая была получена в отделе генетики человека, Института молекулярной биологии и генетики НАН Украины [3].

Клетки культивировали в стеклянных матрасах на среде DMEM («SIGMA», США) с добавлением 10 % эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС, «SIGMA», США) при 37 °C.

Клетки с матраса снимали при помощи трипсина и версена (1:1) и подсчитывали в камере Горяева. Для тестирования использовали 96-луночные плоскодонные планшеты. В каждую лунку вносили по 5 тыс. клеток в 100 мкл среде DMEM с 10 % ЭТС. В опыт брали суточные культуры клеток.

Перед нанесением порошков среду из лунок осторожно удаляли и добавляли по 100 мкл взвеси порошков в среду DMEM с 10 % ЭТС.

Концентрация порошков во взвеси составляла 0,625, 1,25, 5, 10 и 20 мкг/мл. Каждую концентрацию веществ брали в 3-х повторностях. В контрольные лунки вносили по 100 мкл среды DMEM с 10 % ЭТС.

Плашки с клетками и тестируемыми веществами культивировали 96 часов в CO_2 инкубаторе при 37 °C в атмосфере 4 % CO_2 и 80 % влажности.

По истечении этого времени в каждую лунку вносили по 15 мкл МТТ-реагента. Инкубировали планшет 4 часа при 37 °C в атмосфере 4 % CO_2 и 80 % влажности.

Затем в каждую лунку добавляли по 200 мкл DMSO (Украина) и непрерывно перемешивали при помощи микропипетки до полного экстрагирования красителя из клеток.

Измерение оптической плотности проводили при 570 нм на ридере (MR 700 Microplate Reader, «Dynatech», Англия).

Результаты и обсуждение

Порошки в концентрации 0,625, 1,25, 2,5, 5, 10 и 20 мкг/мл в среде DMEM вносили на клетки в каждую лунку 96-луночного планшета. Сорбция наночастиц порошка происходила при совместной инкубации с клетками. На рис. 1 показано влияние порошков № 1, 2, 3 и 4 на пролиферацию клеток.

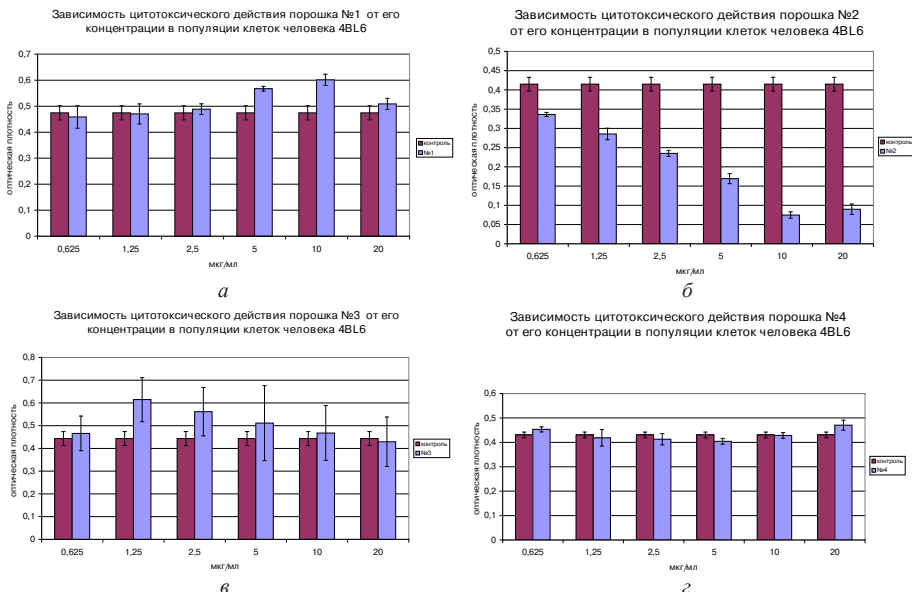


Рис. 1. Зависимость цитотоксического действия порошков на популяции клеток человека 4BL6:

- а — карбонильного железа; б — карбонильного железа, размолотого 30 мин;
- в — полученных восстановлением/разложением цитратных солей;
- г — полученных восстановлением/разложением оксалатных солей

После измерения оптической плотности было показано, что порошки № 1, 3, 4 не оказывают явно выраженного цитотоксического действия на клетки человека (рис. 1 а, в, г). Наоборот, отмечено стимулирующее действие на пролиферацию клеток, в случае порошка № 1 при концентрации 5 и 10 мкг/мл и в случае порошка № 3 при концентрации 1,25 мкг/мл. В то же время порошок № 2 проявил статистически достоверное цитотоксическое действие на исследуемые клетки, при этом наблюдалась прямая зависимость снижения количества клеток от концентрации порошка. Различия между опытными и контрольными вариантами статистически достоверны.

Отмечено, что комплексы клеток и частичек порошка обладают магнитными свойствами, их движением можно управлять при помощи внешнего магнитного поля.

Следует отметить, что, несмотря на использование в медицинской и исследовательской практике наночастичек с модифицированной поверхностью, все же использование не покрытых наночастиц, также представляет интерес [1,5,6]. Преимуществом может быть именно наличие немодифицированной поверхности и контроль размера наночастиц. Это позволит наночастицам проявлять свою химическую активность и более эффективно реагировать с клеточными структурами, а также сохранять свои магнитные свойства [6–9]. В связи с этим является актуальным проведение дальнейших более детальных исследований влияния нанодисперсных порошков на клетки человека.

Литература

1. *Freitas Jr R.A.* Nanotechnology, nanomedicine and nanosurgery / Freitas Jr R.A. // *Int J Surg.* — 2005. — Vol. 3. — 243–246 p.
2. Протокол компанії «Promega CellTiter 96», США «Нерадиоактивный тест на пролиферацию клеток» // <http://www.promega.com/products/cell-health-assays/cell-viability-assays/celltiter-96-aqueous-one-solution-cell-proliferation-assay-mts>.
3. *Лукаш Л.Л.* Репрограммирование соматических клеток взрослого человека IN VITRO / Лукаш Л.Л., Яцишина А.П., Кушнирук В.О., Пидпала О.В. // Фактори експериментальної еволюції організмів. — 2011. — Т. 2. — 493–498 с.
4. *Коваленко Л.В.* Биологически активные нанопорошки железа / Коваленко Л.В., Фолмасин Г.Э. // *Наука.* — 2006. — 124 с.
5. *Lewinski N.* Cytotoxicity of Nanoparticles / Lewinski N., Colvin V., Drezek R. // *Small-journal.* — 2008. — No. 1. — P. 26–49.
6. *Foldvari M.* Carbon nanotubes as functional excipients for nanomedicines: I. pharmaceutical properties / Foldvari M., Bagonluri M. // *Nanomedicine.* — 2010.
7. *Venkatesan N.* Liquid filled nanoparticles as a drug delivery tool for protein therapeutics / Venkatesan N., Yoshimitsu J., Ito Y et al. // *Biomaterials.* — 2005. — Vol. 26 (34). — 7154–7163 p.
8. *Tartaj P.* The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine / Tartaj P., Morales MdP., Veintemillas — Verdaguer S et al. // *J. Phys D Appl Phys.* — 2003. — Vol. 36 (13). — 182–197 p.
9. *Кобаяси Н.* Введение в нанотехнологию. — М.: Бином. Лаборатория знаний. — 2007. — 134 с.
10. *Lesniak W.* Dendrimer nanocomposites as biomarkers: fabrication, characterization, in vitro toxicity and intracellular detection / Lesniak W., Bielinska A., Sun K., Janczak K. W., Shi X., Baker J. R., Balogh L. P. Silver // *Nanoletters* 2005. — Vol. 5. — Iss. 11. — P. 2123–213.

Резюме

Для оцінки впливу нанодисперсних порошків на основі оксиду заліза на клітини людини були проведені дослідження їх цитотоксичності. Показано, що порошок з розміром частинок від 1000–3000 нм має явно виражений цитотоксичний вплив на клітини людини.

Для оценки влияния нанодисперсных порошков на основе оксида железа на клетки человека были проведены исследования их цитотоксичности. Отмечено, что порошок с размером частиц 1000–3000 нм имеет явно выраженное цитотоксическое влияние на клетки человека.

To evaluate the effect of nanosized powders based on iron oxide in the human cells the investigations were performed to study their cytotoxicity. It is noted that the powder particles with a size of 1000–3000 nm has a clearly marked cytotoxic effect on human cells.

РІВЕНЬ СПОНТАННИХ ТА ІНДУКОВАНИХ *IN VITRO* АБЕРАЦІЙ ХРОМОСОМ У ОСІБ ЛІТНЬОГО ВІКУ

За результатами досліджень багатьох авторів з віком спостерігається зростання спонтанної частоти цитогенетичних пошкоджень в клітинах організму, що розглядають як характерну ознаку старіння на рівні ядерного матеріалу клітин [1]. Разом з тим, детальний аналіз даних літератури вказує на неоднозначність та суперечливість взаємозв'язку між стабільністю хромосомного апарату соматичних клітин та віком людини [2–5].

Хронічне опромінення в малих дозах може призводити до істотної дестабілізації геному і виступати як непрямий індуктор захворювань стохастичної природи, про що свідчить підвищений рівень онкологічної захворюваності в радіаційно-забруднених районах [6]. При цьому питання про особливості радіочутливості у осіб різних вікових груп залишається відкритим і малодослідженим. Тому визначення спонтанної частоти аберацій хромосом в соматичних клітинах людей різного віку та їх радіочутливості до дії малих доз радіації є особливо актуальним.

Метою нашої роботи було визначення спонтанного та індукованого опроміненням *in vitro* в малій дозі рівня аберацій хромосом в соматичних клітинах осіб літнього віку, які проживають в м. Київ.

Матеріал та методи

Матеріалом цитогенетичного дослідження були лімфоцити периферичної крові, одержані від 10-ти осіб віком 61–66 років, які постійно проживали в м. Києві і заперечували свідомий контакт з іонізуючою радіацією.

З метою встановлення чутливості осіб цієї вікової категорії до дії радіації кров опромінювали *in vitro* в дозі 0,25 Гр на установці РУМ-17 (фільтри: *Cu* 0,5 мм + *Al* 1 мм, потужність дози 0,415 Гр/хв).

Лімфоцити периферичної крові культивували за загальноприйнятим напівмікрометодом [7] протягом 48 годин. Для приготування цитогенетичних препаратів використовували диференційне G-забарвлення метафазних хромосом за методом М. Seabright [8].

Цитогенетичний аналіз проводили на зашифрованих препаратах під мікроскопом зі збільшенням $\times 1000$. Враховували аберації хроматидного і хромосомного типів. Під час аналізу реєстрували пошкоджені хромосоми та точки розривів згідно з міжнародною номенклатурою ISCN — 2005 [9]. Аналізували не менше 100 клітин від кожного обстеженого. При виконанні роботи проаналізовано 1420 G-диференційно забарвлених метафаз лімфоцитів периферичної крові при визначенні спонтанного рівня аберацій хромосом і 1075 метафаз в досліді з опроміненням *in vitro*.

Статистичну обробку даних проводили з використанням методу порівняння середніх величин за Ст'юдентом.

Результати та обговорення

Цитогенетичний аналіз опромінених *in vitro* в дозі 0,25 Гр лімфоцитів периферичної крові осіб літнього віку показав, що частоти аберантних клітин ($9,40 \pm 0,89$ на 100 метафаз) та аберацій хромосом ($11,35 \pm 0,97$ на 100 метафаз) вірогідно перевищували аналогічні показники контрольних неопромінених культур ($p < 0,05$) (рис. 1). У 80 % обстежених осіб індивідуальні значення спонтанної частоти аберацій хромосом перевищували 3 %, у 40 % — зареєстровано клітини з двома абераціями хромосом. При опроміненні *in vitro* в дозі 0,25 Гр частка осіб з двома абераціями хромосом в одній клітині збільшилась до 90 %, порівняно з контролем, що може вказувати на підвищену радіочутливість осіб цієї вікової категорії.

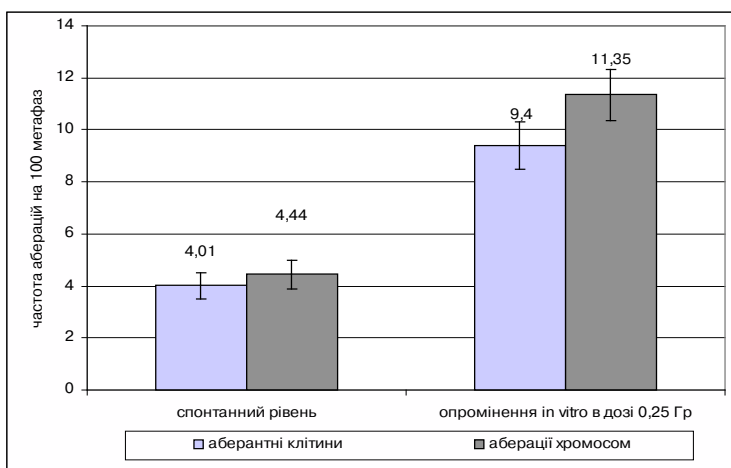


Рис. 1. Рівень спонтанних та радіоіндукованих аберацій хромосом у осіб літнього віку м. Києва

Отримані нами результати співставні з літературними. Так, у дослідженні Р. Егсег у осіб віком 65–69 років спостерігався найбільший відсоток цитогенетичних пошкоджень [2]. В роботі В.Г. Ілющенко [3] при обстеженні здорових донорів від новонародженості до 100 років показано, що починаючи з 40 років зростала кількість клітин, які мали більш ніж одну хромосомну аберацію. Banі Ganguly [4] обстежив 127 здорових осіб широкого вікового діапазону: від одного року до 70, найбільша кількість аберацій хромосом при цьому спостерігалась у 40–70-річних осіб. У порівнянні з нашими попередніми дослідженнями, особи віком 61–66 років мають найвищий спонтанний і радіоіндукований рівень аберацій хромосом [5]. Саме в цьому віці підвищується відсоток клітин з двома абераціями хромосом як при спонтанному, так і радіоіндукованому мутагенезі.

Аналіз спектру зареєстрованих пошкоджень хромосом показав, що частота аберацій хроматидного типу в культурі неопромінених і опромінених лімфоцитів периферичної крові обстежених осіб становила $2,82 \pm 0,44$ та $4,19 \pm 0,61$ на 100 метафаз (рис. 2), що складало 63,5% та 37% від загальної частоти аберацій хромосом. Пошкодження хроматидного типу були представлені хроматидними розривами і хроматидними обмінами. Таким чином, при спонтанному мутагенезі переважали аберації хроматидного типу, тоді як при опроміненні 63% склали аберації хромосомного типу. При спонтанному і радіоіндукованому мутагенезі аберації хромосомного типу зустрічались з частотою $1,62 \pm 0,33$ та $7,16 \pm 0,79$ на 100 метафаз, відповідно, що становило 36,5% і 63% загальної кількості хромосомних порушень.

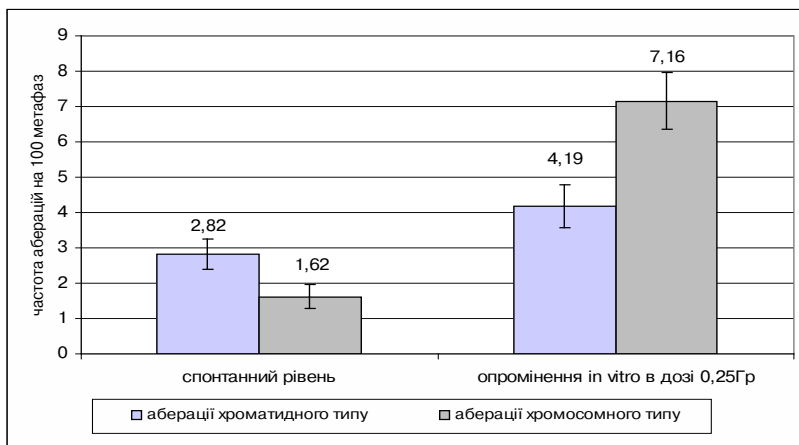


Рис. 2. Частота аберацій хроматидного і хромосомного типів у осіб літнього віку
м. Кієва

Серед аберацій хромосомного типу в неопромінених і опромінених клітинах зареєстровано термінальні та інтерстиціальні делеції, транслокації, інверсії, дицентричні і кільцеві хромосоми. Переважну більшість цих пошкоджень у всіх обстежених складали делеції, які зустрічались з частотою: $0,78 \pm 0,23$ та $3,81 \pm 0,58$ на 100 метафаз в неопромінених і опромінених клітинах, відповідно (рис. 3). Більшість делецій хромосом було представлено термінальними пошкодженнями.

Спонтанний рівень симетричних (транслокацій та інверсій) і асиметричних (дицентричних та кільцевих хромосом) хромосомних обмінів становив $0,56 \pm 0,20$ та $0,28 \pm 0,14$ на 100 метафаз, відповідно. Опромінення індувало зростання частоти транслокацій та інверсій до $1,40 \pm 0,36$ на 100 метафаз. Частота нестабільних маркерів опромінення (дицентричних та кільцевих хромосом) статистично достовірно перевищувала спонтанну і становила $1,95 \pm 0,42$ на 100 метафаз.

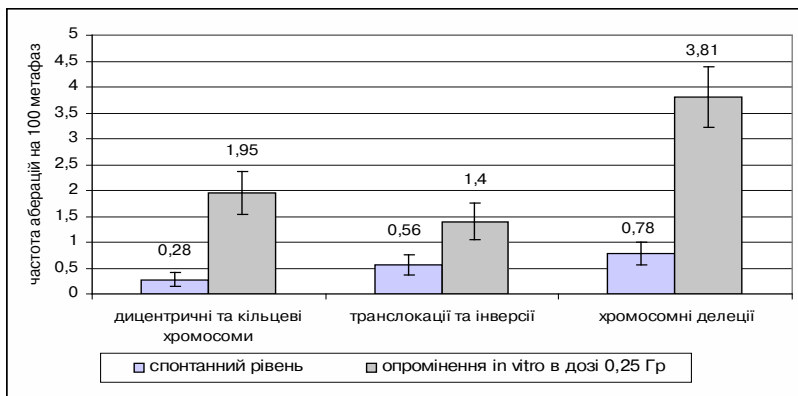


Рис. 3. Спектр спонтанних і радіоіндукованих аберацій хромосомного типу у осіб літнього віку м. Києва

Слід зазначити, що співвідношення частот симетричних і асиметричних хромосомних обмінів при спонтанному та радіоіндукованому мутагенезі суттєво відрізнялись. Так, в контролі, частота транслокацій і інверсій перевищувала частоту дицентричних та кільцевих хромосом. Опромінення в дозі 0,25 Гр призвело до підвищення рівня дицентричних та кільцевих хромосом, які індукувались з більшою частотою, ніж транслокації.

Висновки

В результаті цитогенетичного обстеження встановлено, що частота аберацій хромосом у осіб віком 61–66 років, які проживали в м. Києві, складала $4,44 \pm 0,55$ на 100 метафаз і перевищувала середньопопуляційну. Рентгенівське опромінення *in vitro* лімфоцитів крові осіб літнього віку в дозі 0,25 Гр індукувало статистично достовірне зростання рівня аберацій хромосом до $11,35 \pm 0,97$ на 100 метафаз за рахунок аберацій хромосомного типу.

Література

1. Балакин В. Е., Заичкина С. И., Розанова О. М., Клоков Д. Ю., Антикаева Г. Ф., Ахмадиева А. Х., Смирнова Е. Н. Эффект возрастной стабилизации генома при действии малых доз ионизирующего излучения // Профилактика старения. — 2001. — 4–90 с.
2. Predrag Erceg, Dragoslav P. Milosevic, Nebojsa Despotovic and Mladen Davidovic Chromosomal changes in ageing // Journal of Genetics — 2007. — Vol. 86, N3. — P. 277–278.
3. Илющенко В. Г. Классификация спонтанной генотипической клеточной адаптации // Цитология і генетика. — 2002. — Т. 36, № 5. — С. 34–42.
4. Bani Bandana Ganguly. Cell division, chromosomal damage and micronucleus formation in peripheral lymphocytes of healthy donors: related to donor's age // Mutation Research. — 1993. — V. 295. — P. 135–148.

5. Талан О. О., Шеметун О. В. Частота аберацій хромосом у осіб різного віку, які проживають у Києві // Доповіді НАН України. — 2010. — № 11. — С. 148–152.

6. Дьоміна Е. А., Рябченко Н. М., Баріляк І. Р. Індивідуальна радіочутливість людини: цитогенетичні аспекти // Цитология и генетика. — 2007. — № 5. — С. 32–35.

7. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: Метод. рекомендації / КМАПО МОЗ України. — Київ, 2003. — 23 с.

8. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes // Lancet. — 1971. — Vol. 2. — P. 971–972.

9. An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding (2005) / Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature. — Basel: Karger, 2005. — 130 p.

Резюме

Встановлено спонтанний та індукований *in vitro* в дозі 0,25 Гр рівень аберацій хромосом у лімфоцитах осіб віком 61–66 років, які постійно проживали в м. Києві. При опроміненні лімфоцитів периферичної крові *in vitro* в дозі 0,25 Гр відмічено вірогідне підвищення рівня аберацій хромосом за рахунок аберацій хромосомного типу.

Установлен спонтанный и индуцированный *in vitro* в дозе 0,25 Гр уровень абераций хромосом в лимфоцитах жителей Киева в возрасте 61–66 лет. При облучении лимфоцитов периферической крови *in vitro* в дозе 0,25 Гр отмечено достоверное повышение уровня абераций хромосом за счет абераций хромосомного типа.

Spontaneous and *in vitro* radioinduced in dose 0,25 Gy level of chromosome aberrations in 61–66 years old Kyivites had been investigated. In irradiated in dose 0.25 Gy peripheral blood lymphocytes increase of chromosome aberrations due to chromosomal type had been established.

**ТЕРПИЛЯК О. І., ЗАСТАВНА Д. В., СОСНІНА К. О., ГЕЛЬНЕР Н. В.,
СЄДНІСВА І. А.**

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»

Україна, 79000, м. Львів, вул. М. Лисенка, 31 а, e-mail: root@ihp.lviv.ua

АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ НЛА-ГЕНОТИПУВАННЯ ПРИ РАННІХ РЕПРОДУКТИВНИХ ВТРАТАХ У ЛЮДИНИ

Біля 60% зигот людини елімінується на пре- та ранніх післяімплантаційних стадіях ембріогенезу, а 15–20% клінічно верифікованих вагітностей мимовільно перериваються у І триместрі вагітності. У 45% рання втрата вагітності супроводжується материнською імунною інтолерантністю та окреслюється поняттям «імунне непліддя». Імунний статус організму обумовлює головний комплекс гістосумісності (МНС — Major Histocompatibility Complex), який у людини ще називається НЛА-системою (Human Leukocyte A-system). Участь головного комплексу гістосумісності у схильності до непліддя розглядається під кутом зору пошуку конкретних генів НЛА, причетних до репродуктивних втрат, подібності подружжя

по HLA-антигенах, або вивчення ролі HLA-системи в комплексі генної сітки [1, 7, 9].

Не всі антигени HLA в рівній мірі задіяні в генезі репродуктивних невдач. Особлива функція, згідно останніх результатів, належить HLA-G — антигену. Це — неklasичний HLA-антиген, який, на відміну від антигенів класичних, виявляється вже на самих ранніх стадіях ембріогенезу людини. Передбачається, що певні поліморфізми, знайдені в кодуючій та регуляторних частинах гена *HLA-G* та асоційовані з різною його експресією можуть мати значення для пролонгування вагітності [8, 10, 11]. При репродуктивних втратах важлива роль належить регіону 14-base pair (bp) гена *HLA-G*, оскільки відомо, що 14-bp інсерція/делеція-поліморфізм безпосередньо впливає на рівень експресії гена *HLA-G* [16]. Не виключаються при цьому міжтканинні відмінності у рівні продукції антигенів HLA-G і можливий вплив на ці процеси модулюючих чинників. На користь такого припущення свідчать останні результати щодо імуномодулюючого впливу цитокінів, секретованих плацентою, на транскрипцію гена *HLA-G* в клітинах трофобласта. Зокрема, обговорюється взаєморегулювання експресії генів *HLA-G* та *IL-10* [2, 4, 8, 11]. Враховуючи значну дискусію щодо впливу SNP (single-nucleotide polymorphisms) в промоторній ділянці гена *IL-10* на рівень його експресії **метою** нашого дослідження було проаналізувати особливості алельного поліморфізму генів *HLA* — *DRB1*, *DQA1*, *DQB1*, поліморфізму інсерція/делеція 14 п. н. 3'UTR гена *HLA-G* в комплексі з вивченням *SNP -1082G-A*, — *592 C-A*, — *819 C-T* гена *IL-10* у родинах з ранніми репродуктивними втратами.

Матеріал і методи

Обстежено 268 подружніх пар з репродуктивними невдачами: 122 пари з ННВ (2–3-разове мимовільне переривання вагітності до 12 тижнів гестації), 146 пар з ПН (вагітність не наступала жодного разу протягом щонайменше 2-річного сумісного подружнього життя). Особливості поліморфізму інсерція/делеція 14 п. н. 3'UTR гена *HLA-G* вивчено також у 86 мимовільно перерваних ембріонів людини 5–12 — тижнів гестації. Контролем слугували 20 подружніх пар без обтяженого акушерсько-генетичного анамнезу, у котрих є 2-є і більше здорових дітей та 100 репродуктивно здорових жінок.

ДНК, виділену та очищену з клітин периферійної крові та ворсин хоріона мимовільно перерваних ембріонів, досліджували за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та електрофорезу в агарозному гелі. Використовували набори фірми ООО «Лаборатория Изоген» (м. Москва, РФ). ПЛР проводили в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» («ДНК-технология», РФ).

Статистичне опрацювання результатів проводили з використанням критерію Пірсона χ^2 . Для всіх видів аналізу критичний рівень значущості для статистичних критеріїв приймався рівень $p < 0,05$. Асоціацію генотипів

та алелів з ризиком репродуктивних втрат оцінювали за допомогою розрахунку коефіцієнту шансів (Odds ratio, OR) з 95 % довірчим інтервалом.

Результати та обговорення

Основну досліджувану групу склали подружні пари з ранніми 2–3-разовими репродуктивними втратами нез'ясованого генезу. Всебічні клінічні, лабораторні та медико-генетичні обстеження цих пар дозволили поставити діагноз «ідіопатичне навикове невиношування вагітності». В подальшому в роботі ця група характеризувалася як подружні пари з ННВ (навиковим невиношуванням вагітності). Всього обстежено 122 пари з ННВ. Генотипуванню підлягали DR- та DQ-локуси HLA-системи II класу. Досліджено 16 алелів гена *HLA-DRB1*, 10 алелів гена *HLA-DQA1* та 19 алелів гена *HLA-DQB1*. Охарактеризовано алельні поліморфізми та генотипи в межах цих генів. Проведено статистичний аналіз отриманих даних у порівнянні з контрольною групою репродуктивно здорових пар. Результати також співставляли з результатами, отриманими у групі неплідних пар з ідіопатичним первинним непліддям (ПН), коли з незрозумілих причин вагітність не наступала жодного разу.

Отримані результати показали дещо іншу, порівняно з контролем, картину алельного розподілу у досліджуваних генах у групі подружніх пар з ННВ. Зокрема, зафіксовано вірогідно значиме зниження частоти наступних алелей: *DRB1**1302, *DRB1**1201–1202, *DRB1**0701–0702 та *DQA1**0201. Ці алелі, очевидно, є алелями-протекторами репродуктивних втрат. У групі жінок з ННВ серед виявлених алелів-протекторів домінуюча роль належить *DRB1**1302-алелю ($\chi^2=18.275$ $p<0.01$), а серед чоловіків — *DRB1**0701–0702-алелю ($\chi^2=5.687$, $p<0.01$). Принципово подібна картина зафіксована і у групі подружніх пар з ПН. Нагадаємо, що всього обстежено 146 подружніх пар з непліддям нез'ясованого генезу, коли вагітність не наступала жодного разу протягом щонайменше 2-річного сумісного подружнього життя. Як показали результати, у порівнянні з контрольною групою, група з ПН характеризувалася вірогідно заниженими частотами наступних алелів: *DRB1**1302, *DRB1**0701–0702 та *DQB1**0304 і *DQA1**0201. Причому, як і в групі з ННВ так і у групі жінок з ПН домінуючим протекторним алелем є *DRB1**1302-алель ($\chi^2=22.121$, $p<0.001$), а у чоловіків *DRB1**0701–0702—алель ($\chi^2=5.938$, $p<0.05$).

Група з ННВ характеризувалася підвищеною, порівняно з контролем, частотою *DRB1**0301-алеля. Причому, його частота була вірогідно значимо вищою лише у групі жінок з ННВ ($\chi^2=3.963$ $p<0.05$). Обрахунок коефіцієнту шансів показав, що носійство цього алеля підвищує ризик ранніх репродуктивних втрат у жінки вшестеро (OR=6.1; CI-95 %: 1.1788–14.4482). Таким чином, допускаємо, що *DRB1**0301-алель є алелем-агресором в групі жінок з ННВ. Найчастіше в групі жінок з ННВ *DRB1**0301-алель зустрічається у компаунді з алелем *DRB1**0701–0702 при повній відсутності такого генотипу у контрольній групі жінок. Для порівняння, у групі подружніх

пар з ПН найчастіше зустрічається алель *DQB1*0201*. Вірогідно значиме підвищення його частоти зафіксовано у групі жінок з ПН при показнику критерію Пірсона $\chi^2=4,897$. Обрахунок коефіцієнта шансів (OR) показав, що носійство цього алеля підвищує ризик непліддя для жінки вчетверо (OR=4.127 CI-95 %: 1.1788–14.4482). Таким чином, допускаємо, що *DQB1*0201*-алель є алелем-агресором в групі жінок з первинним непліддям, він найчастіше зустрічається в гомозиготному стані та у компаунді з **0301*-, **0302*-та **0304* — алелями *DQB1*-гена. Отже, групи подружніх пар з первинним непліддям та навиковим невиношуванням вагітності, при практично ідентичних алелях-протекторах, характеризуються різними алелями-агресорами DR- та DQ — локусів HLA-системи, що може свідчити про різний генез цих репродуктивних невдач. Ми також солідарні з іншими колегами [3, 5, 6, 10, 11] відносно того, що наявність певних алельних варіантів генів DR- та DQ — локусів HLA-системи у матері створюють умови, при яких її імунна система не розпізнає антигени плода і не запускає потрібні для розвитку плоду захисні механізми.

В продовження вище сказаного і опираючись на останні результати літератури, що пролонгування вагітності великою мірою залежить від неklasичного HLA-G — антигена і асоційовано з поліморфізмом інсерція/делеція 14 п. н. 3' UTR гена *HLA-G*, наступним етапом роботи був аналіз розподілу генотипів поліморфізму інсерція/делеція 14 п. н. 3' UTR гена *HLA-G* у жінок з ННВ. Такі ж дослідження проведені і в біологічному матеріалі мимовільно перерваних ембріонів. Всього обстежено 140 жінок з ННВ, 86 мимовільно перерваних ембріонів людини 5–12 — тижнів гестації та 100 репродуктивно здорових жінок. Показано вірогідно значиме зростання частоти генотипу +14 п. н./+14 п. н. 3' UTR гена *HLA-G* ($\chi^2=4,021$, $P<0,05$) у групі жінок з ННВ у порівняння з контрольною групою. Розрахунок коефіцієнту шансів (OR-odds ratio) показав зростання більше, ніж у 3-и рази ризику невиношування вагітності у жінок-носійв гомозиготного генотипу за алелем інсерція (+)14 п. н. 3' UTR гена *HLA-G* (OR=3.41 CI-95 %: 0.98–11.85). Зафіксовано вірогідно значиме зростання частоти генотипу +14 п. н./+14 п. н. ($\chi^2=4,881$, $P<0,05$) також в групі мимовільно елімінованих ембріонів (OR=2.75 CI-95 %: 1.10–6.90).

Враховуючи останні результати літератури щодо імуномодулюючого впливу цитокінів (IL-10 зокрема), секретованих плацентою, на транскрипцію гена *HLA-G* в клітинах трофобласта, ми вважали доречним в комплекс досліджень включити вивчення SNP (однонуклеотидних поліморфізмів) промоторної ділянки *IL-10* в групі жінок з ННВ. Вивчено *SNP-1082GA*, — 5 2 CA, — 819 CT *IL-10*, які відповідають за силу експресії *IL-10*. Всього обстежено 73 жінки з ННВ, контроль склав 100 репродуктивно здорових жінок. Результати також співставляли з результатами, отриманими у групі жінок з ПН (обстежено 20 жінок з ПН). При аналізі алельних поліморфізмів та особливостей розподілу генотипів *SNP-1082 G-A*, — 592 C-A, — 819 C-T

гена *IL-10* встановлено вірогідно значиме підвищення частоти GG-генотипу ($\chi^2=12$, $P<0,01$) *SNP -1082G-A* та CC-генотипів ($\chi^2=5,9$, $P<0,05$) *SNP-592 C-A*, —819 C-T у групі жінок з ННВ у порівнянні з контрольною групою. Розрахунок коефіцієнта шансів (OR) показав зростання ризику ННВ до 4-х разів при даних генотипах: OR=3.43 (CI-95 %: 1.72–6.84) при GG-генотипі *SNP -1082 G-A*; OR=3.87 (CI-95 %: 1.23–12.20) при CC-генотипах *SNP-592 C-A*, —819 C-T. Перечислені генотипи вважаються генотипами високої експресії *IL-10*, тому ми відстоюємо думку, що генетична predisпозиція до підвищеної експресії *IL-10* асоціюється з ранніми репродуктивними втратами. Група жінок з ПН за особливостями алельного поліморфізму та розподілом генотипів *SNP -1082 G-A*, —592 C-A, —819 C-T гена *IL-10* не відрізнялася від контрольної групи. На підставі отриманих результатів допускаємо, що власне при навиковому невиношуванні вагітності запускається так звана «материнська імунна відповідь на плід» в тому числі і через генетично обумовлені порушення цитокінового статусу жінки.

Підсумовуючи все вище сказане, очевидно, що мутації в генах головного комплексу гістосумісності і зміни у генах, продукти яких взаємодіють з HLA-системою, можуть бути причиною порушення репродуктивної функції у жінки і призводить до ранньої елімінації плода. Можна думати, що ранні репродуктивні втрати можуть обумовлюватися певними порушеннями імунних процесів у жінки, які великою мірою також пов'язані з HLA-системою. Отже, HLA-генотипування подружніх пар з репродуктивними невдачами є надзвичайно важливим та відкриває нові можливості для коректного підбору лікарських засобів, зокрема імуномодуляторів, скерованих на збереження потомства.

Висновки

1. Група жінок з навиковим невиношуванням вагітності характеризувалася вірогідно значимо підвищеною, порівняно з контролем, частотою *DRB1*0301*-алеля. Обрахунок коефіцієнту шансів (OR) показав, що носійство цього алеля підвищує ризик ранніх репродуктивних втрат у жінки вшестеро.
2. Встановлено вірогідно значиме зростання частоти генотипу +14 п.н. /+14 п.н 3'UTR гена *HLA-G* у групі жінок з навиковим невиношуванням вагітності у порівнянні з контрольною групою. Показано зростання більше, ніж у 3-и рази ризику невиношування вагітності у жінок-носіїв гомозиготного генотипу за алелем інсерція (+)14 п.н 3'UTR гена *HLA-G*.
3. Вірогідно значиме зростання частоти генотипу +14 п.н./+14 п.н встановлено також в групі мимовільно елімінованих ембріонів.
4. Показано, що навикове невиношування вагітності у жінок асоціюється з алелями та генотипами високої експресії інтерлейкіна-10.
5. Допускаємо, що мутації в генах головного комплексу гістосумісності і зміни у генах, продукти яких взаємодіють з HLA-системою, можуть бути причиною порушення репродуктивної функції у жінки і призводити до ранньої елімінації плода.

Література

1. Колчанов Н. А. Генные сети / Н. А. Колчанов, Е. А. Ананько, Ф. А. Колпаков, [и др.] // Молекулярная биология. — 2000. — № 5. — С. 56–59.
2. Choi Y. Cytokine gene polymorphisms in recurrent spontaneous abortions: a comprehensive review / Y. J. Choi, Kwak-Kim et al. // J. Reprod. Immunol. — 2008. — Vol. 60, № 2. — P. 91–110.
3. Costeas P. A. Th2/Th3 cytokine genotypes are associated with pregnancy loss / P. A. Costeas, A. Koumouli, A. Giantsiou-Kyriakou et al. // Hum. Immunol. — 2004. — Vol. 65. — P. 135–141.
4. Dara S. Comprehensive Analysis of HLA-G: Implications for Recurrent Spontaneous Abortion / S. Dara, A. Hogge et al. // Reproductive Sciences. — 2010. — Vol. 17, № 4. — P. 331–338.
5. Hiby S. Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success / S. Hiby, J. Walker, K. O'shaughnessy // J Exp. Med. — 2004. — Vol. 200, № 8. — P. 957–65.
6. Hviid T. HLA-G polymorphisms in couples with recurrent spontaneous abortions / T. Hviid, S. Hylenius et al. // Tissue antigens. — 2002. — Vol. 60, № 2. — P. 122–132.
7. Robinson J. IMGT/HLA Database—a sequence database for the human major histocompatibility complex / James Robinson, Matthew J. Waller, Peter Parham [et al.] // Nucleic Acids Research. — 2007. — Vol. 29, No 1. — P. 210–213.
8. Shankarkumar U. HLA allele associations in idiopathic recurrent spontaneous abortion patients from India / U. Shankarkumar, A. Pawar, P. Gaonkar // J Hum. Reprod. Sci. — 2008. — Vol. 1, № 1. — P. 19–24.
9. Speed T. P. Linkage disequilibrium between human leukocyte antigen (HLA) class II and HLA-G-possible implications for human reproduction and autoimmune disease / T. P. Speed, K. Jin K., T. J. Gill // Am. J. Hum. Genet. — 2005. — Vol. 56, No 6. — P. 1456–1467.
10. Takakuwa K. Molecular genetic studies on the compatibility of HLA class II alleles in patients with unexplained recurrent miscarriage in the Japanese population / K. Takakuwa, K. Honda, T. Yokoo et al. // Clin Immunol. — 2006. — Vol. 118, № 1. — P. 101–108.
11. Varla-Leftherioti M. 14th International HLA and Immunogenetics Workshop: Report from the reproductive immunology component / M. Varla-Leftherioti, T. Keramitsoglou, M. Spyropoulou-Vlachou et al. // Tissue Antigens. — 2007. — Vol. 69, № 1. — P. 297–303.
12. Vauvert T. HLA-G in human reproduction: aspects of genetics, function and pregnancy complications / T. Vauvert // Hum. Reprod. Update. — 2006. — Vol. 12, № 3. — P. 209–232.

Резюме

Мутації в генах головного комплексу гістосумісності і зміни в генах, продукти яких взаємодіють з HLA-системою, можуть бути причиною порушення репродуктивної функції у жінки і призводити до ранньої елімінації плоду.

Мутации в генах главного комплекса гистосовместимости человека и изменения в генах, продукты которых взаимодействуют с HLA-системой, могут быть причиной нарушений репродуктивной функции женщины и приводит к ранней элиминации плода.

Mutations in the major histocompatibility complex genes and changes in genes whose products interact with the HLA-system, can cause reproductive disorders in women and lead to early elimination of the fetus.

ВИСОКА ЧАСТОТА МУТАЦІЇ CCR5DEL32 ГЕНА ХІМОКІНОВОГО РЕЦЕПТОРА CCR5 СЕРЕД ЖИТЕЛІВ ЗАХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ

Україна займає одне із чільних місць у Європі щодо швидкості розповсюдження ВІЛ [1]. Для того, щоб виникла і поширилася інфекційна хвороба, недостатньо наявності природного резервуару збудника і можливостей для його передачі. Швидкість розвитку епідемічного процесу залежить від співвідношення сприйнятливих та резистентних індивідів у кожній конкретній популяції. Відтак, об'єктивне прогнозування ступеня схильності і клінічного варіанту перебігу хвороби потребує з'ясування природи провідних зовнішніх провокуючих середників та визначення і диференціації фенотипічних ефектів окремих генів з урахуванням, що частоти окремих алейних варіантів суттєво варіюють у популяціях [2,3].

Відкриття останніх років виявили тісний зв'язок між хемокінами, хемокіновими рецепторами і ВІЛ-інфекцією. Окрім добре відомої ролі блокування проникнення вірусної частки шляхом зв'язування з рецепторами, роль хемокінів виявилися глибоко залучена в процес патогенезу ВІЛ. У 1996 році п'ятьма незалежними групами був ідентифікований бета-хемокіновий рецептор (CC) CKR-5 (пізніше перейменований в CCR-5) як основний корецептор для NSI-підвиду ВІЛ.

Імунологічні або генетичні зміни, які впливають на рівень хемокінів, можуть впливати на сприйнятливість до ВІЛ-інфекції або швидкість прогресування захворювання після інфікування. Ряд досліджень підтвердило припущення про те, що вивільнення хемокінів є ранньою реакцією на інфікування вірусом, причому високий рівень хемокінів, що використовують рецептор CCR-5, асоційований з більш повільною прогресією захворювання. Особи, у яких є визначені мутантні гени, можуть мати клітини CD4 менш уразливі перед ВІЛ. Це пов'язано з тим, що у таких осіб на клітинах не вистачає так званих корецепторів CXCR4 і CCR5. Обидва корецептори потрібні вірусу для проникнення в клітину [4].

CCR5-del32 — генетичний варіант CCR, є делецією 32 пар нуклеотидів, що приводить до порушення адгезивних властивостей кодованого нею білка CCR5 Т-клітин. Ця делеція відповідає другій петлі трансмембранного білка, призводить до зрушення рамки зчитування, що викликає передчасне закінчення трансляції і утворюється білок позбавляється трьох трансмембранних сегментів. Такий рецептор втрачає функціональність і призводить до неможливості приєднання ВІЛ вірусу до Т-клітини. Носії даної мутації (гомозиготи) набувають стійкості до зараження вірусом R5-HIV-1. Гетере-

зиготи мають в два рази нижчу кількість рецепторів CCR-5, що значно сповільнює реплікацію вірусу і прогресію захворювання [5,6].

Єдиний опублікований випадок про вилікування пацієнта від ВІЛ пов'язаний із застосуванням стовбурових клітин із мутацією CCR5del32/del32 гена хемокінового рецептора *CCR5* [7]. Тому вивчення розповсюдження даної мутації та ідентифікація гомо- та гетерозигот за даною мутацією є необхідним як для прогнозування так і для розробки підходів до терапії.

Отже, метою даної роботи було встановити частоту мутації CCR5del32 гена хемокінового рецептора *CCR5*, що веде до резистентності до ВІЛ серед осіб Західного регіону України.

Матеріали та методи

Матеріалом для дослідження слугувала ДНК 108 практично здорових осіб, які є вихідцями і проживають на території Західної України. У досліджуваній групі кількість осіб чоловічої і жіночої статей склали по 50%. Вік обстежуваних був у межах від 23 до 43 років. Проводили виділення та очищення ДНК з лейкоцитів периферійної крові методом висолювання [8]. Ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro* проводили, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції [9]. ПЛР проводили в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» (ДНК-технологія, Росія). Продукти ампліфікації візуалізували шляхом проведення електрофорезу в 2% агарозному гелі, який містив бромистий етидій та сканували на ультрафіолетовому транслюмінаторі «ECX-15. M» (VILBER LOURMAT, Франція). Отримані сигнали порівнювали з маркерами довжин, і на основі цього детектували розміри отриманих фрагментів. Результати сканування агарозних гелів знімали цифровою камерою «Gel Imager» (HELICON, Росія). Обробку зображень здійснювали на комп'ютері за допомогою програм Adobe Photoshop CS та Gel Explorer 2.0.

Результати та обговорення

В результаті даної роботи апробовано методику молекулярно-генетичного дослідження мутації CCR5del32 в гені хемокінового рецептора *CCR5* (номер поліморфізму NCBI — rs333, резистентність до М-тропних штамів ВІЛ-1). Електрофореграму молекулярно-генетичного дослідження мутації CCR5del32 наведено на рис. 1.

Проведеномолекулярно-генетичнедослідженнямутаціїCCR5del32гена рецептора хемокінів *CCR5* у 108 осіб. Отримані результати показали, що у досліджуваній групі мутацію CCR5del32 в гетерозиготному стані виявлено у 22 осіб, що становить 20,37% (рис. 2). Мутацію CCR5del32 в гомозиготному стані в досліджуваній групі не виявлено. Серед осіб жіночої статті мутацію CCR5del32 в гетерозиготному стані виявлено у 13 осіб (24,07%). В осіб чоловічої статті мутацію CCR5del32 в гетерозиготному стані виявлено у 9 осіб, що становить 16,67%.

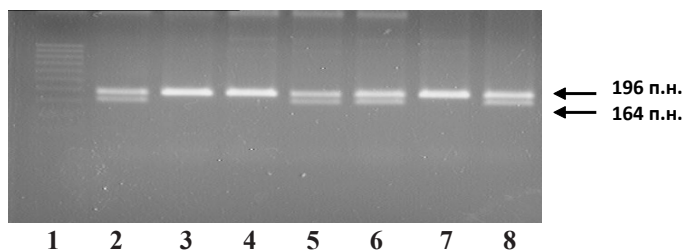


Рис. 1. Електрофореграма ПЛР реакції (2 % агарозний гель):
1 — маркери молекулярної ваги (Ladder 50 bp); 2, 5, 6, 8 — наявність матації
CCR5del32; 3, 4, 7 — відсутність мутації CCR5del32

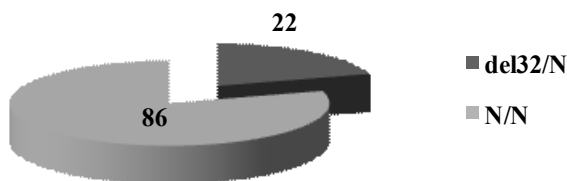


Рис. 2. Частота мутації CCR5del32 гена хемокінового рецептора CCR5
у вибірці осіб Західного регіону України

Отримані результати щодо поширеності мутації CCR5del32 серед осіб Західного регіону України є вищими ніж в інших регіонах України, де частота цієї мутації в середньому складає 10% [10, 11]. Мутація CCR5-del32 в гетерозиготному стані зустрічається в Європі з частотою 5–14%. Найвищі в світі частоти CCR5-del32 виявлено у поморів — 33%. Дослідження ВІЛ-протективних генів показало наявність досить високої частоти мутації CCR5-del32 у росіян, де частота цієї мутації в середньому складає 21%. Поширеність мутації CCR5-del32 за межами Європи вкрай мала, в багатьох неєвропейських етнічних групах вона повністю відсутня [12].

Генотип CCR5 щодо мутації CCR5del32 разом із результатами аналізу мутацій генів CCR2 і SDF1 використовується для розрахунку коефіцієнту відносного ризику розвитку СНІД і смерті в результаті СНІД для кожної популяції [13]. Тому наступним етапом роботи повинен бути аналіз мутацій генів CCR2 і SDF1, асоційованих із резистентністю до ВІЛ.

Висновки

1. У дослідженій групі жителів Західної регіону України мутацію CCR5del32 в гетерозиготному стані виявлено 20,37% осіб.
2. Не зареєстровано жодного випадку наявності мутації CCR5del32 у гомозиготному стані.
3. У жінок мутацію CCR5del32 виявляли частіше (24,07%), ніж у чоловіків (16,67%).

4. Отримані результати, що до частоти мутації CCR5del32 гена рецептора хемокінів CCR5 у осіб Західного регіону України говорять про достатньо високу генетичну стійкість до зараження ВІЛ у порівнянні з іншими етнічними вибірами.

Література

1. UNAIDS: The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS.
2. *Novembre J., Galvani A.P., Slatkin M.* The geographic spread of the CCR5 Delta32 HIV-resistance allele // *PLoS Biol.* — 2005. — Vol. 3, № 11. — P. 339.
3. *Limborska S.A., Balanovsky O.P., Balanovskaya E. V et al.* Analysis of CCR5Delta32 geographic distribution and its correlation with some climatic and geographic factors // *Hum Hered.* — 2002. — Vol. 53, № 1. — P. 49–54.
4. *Signoret N., Rosenkilde M. M., Klasse P.J. et al.* Differential regulation of CXCR4 and CCR5 endocytosis // *Journal of Cell Science.* — 1998. — Vol. 111. — P. 2819–2830.
5. *Martin M. P., Dean M., Smith M. W. et al.* Genetic acceleration of AIDS progression by a promoter variant of CCR5 // *Science.* — 1998. — Vol. 282, № 5395. — P. 1907–191.
6. *Campbell G. R., Pasquier E., Watkins J. et al.* The glutamine-rich region of the HIV-1 Tat protein is involved in T-cell apoptosis // *Journal Biol. Chem.* — 2004. — Vol. 279, № 46. — P. 48197–48204.
7. *Allers K., Hütter G.* Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Δ32/Δ32 stem cell transplantation / K. Allers, G. Hütter // *Blood — Journal of the American Society of Hematology.* — 2011. — Vol. 117, № 10. — P. 2791–2799.
8. Пат. 32044 UA, МПК G01N33/49 (2006.01) Спосіб виділення ДНК з лейкоцитів периферійної крові / Макух Г. В., Заставна Д. В., Тиркус М. Я. [та ін.], заявник ДУ «Інститут спадкової патології АМНУ». — № u200801896; заявл. 14.02.2008; опубл. 25.04.2008, Бюл. № 8.
9. *Mc. Pherson M. J., Quirke P., Taylor G. R.* PCR a Practical Approach. Oxford University press // New York: Oxford University press, 1993. — 253 p.
10. *Лившиць Л. А., Памтуха В. Н., Кравченко С. А.* Распространение делеции 32 п. н. в гене рецептора хемокинов CCR5 в разных регионах Украины // *Цитология и генетика.* — 2000. — Т. 34, № 5 — С. 18–21.
11. *Довженко С. П., Подольська С. В., Горovenko Н. Г.* Вплив поліморфних варіантів гена TP53 і гена хемокинового рецептора CCR5 на ризик виникнення раку молочної залози у жінок з України // *Журн. АМН України.* — 2010. — Т. 16, додаток. — С. 55–56.
12. *Кофиади И. А.* Генетическая устойчивость к заражению ВИЧ и развитию СПИД в популяциях России и сопредельных государств: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук: спец. 14.00.36. — М., 2008. — 23 с.
13. *Winkler C., Modi W., Smith M. W. et al.* Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant // *Science.* — 1998. — Vol. 279. — P. 389–393.

Резюме

Проведено молекулярно-генетичне дослідження мутації CCR5del32 гена рецептора хемокінів CCR5 у 108 осіб Західного регіону України. У дослідженій групі мутацію CCR5del32 в гетерозиготному стані виявлено 20,37% осіб. У жінок мутацію CCR5del32 детектували частіше (24,07%), ніж у чоловіків (16,67%). Отримані результати говорять про достатньо високу генетичну стійкість до зараження ВІЛ у порівнянні з іншими етнічними вибірами.

Проведено молекулярно-генетическое исследование мутации CCR5del32 гена рецептора хемокинов CCR5 в 108 человек Западного региона Украины. В исследованной группе мутацию CCR5del32 в гетерозиготном состоянии обнаружено 20,37% человек. У женщин мутацию CCR5del32 детектировали чаще (24,07%), чем у мужчин (16,67%). Полученные результаты говорят о достаточно высокой генетической устойчивости к заражению ВИЧ по сравнению с другими этническими группами.

A molecular genetic study of chemokine receptor gene mutations CCR5del32 was performed in 108 people of the Western region of Ukraine. The frequency of CCR5del32 heterozygote was 20.37% in test group. CCR5del32 mutations were more frequently in group of women (24.07%) than in group of men (16.67%). The results showed relatively high genetic resistance to HIV infection compared to other ethnic groups.

ТЮТЮННИКОВА А. П., ЛИСЕЦЬКА Т. Ю., ГУР'ЯНОВ Д. С., КРАВЧУК І. В., ТЕЛЕГЕСЬВ Г. Д.

*Інститут молекулярної біології і генетики НАНУ,
Україна, 03680, Київ, пр. Заболотного, 150,
e-mail: anna.tyutyunykova@gmail.com*

БІЛКИ, ЩО ВЗАЄМОДІЮТЬ З РН ДОМЕНОМ BCR-ABL, ТА ЇХНЯ РОЛЬ У ФОРМУВАННІ ПУХЛИННОГО ФЕНОТИПУ ПРИ РОЗВИТКУ МІЄЛОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ

Розвиток більшості мієлопроліферативних захворювань асоційований із хромосомними аномаліями у важливих геномних регіонах. Одним із таких порушень є транслокація t (9;22), в результаті якої формується гібридний білок Bcr-Abl, що володіє багатьма функціями, важливими для розвитку неопластичних захворювань крові. В залежності від точки розриву в гені Bcr можуть утворюватись форми білка Bcr-Abl, основна різниця між якими полягає у наявності чи відсутності доменів PH, C2 та DH.

В наших попередніх роботах [1] було показано, що PH домен Bcr-Abl взаємодіє із численною кількістю білків, серед яких такі білки, як фосфоліпаза С епсилон (PLCε), ІККβ та формін-зв'язуючий білок 17 (FBP17). Ці білки було обрано для подальшого аналізу їхньої взаємодії з PH доменом Bcr-Abl.

Фосфоліпаза С епсилон є найбільшим за розміром білком серед родини фосфоліпаз С. На відміну від інших представників родини, цей білок має не лише домени, що відповідають за взаємодію із фосфоліпідами, а і додаткові домени (CDC25, RA1, RA2), які взаємодіють із іншими білками (Ras та Rap ГТФазами), обумовлюючи протікання найрізноманітніших процесів у клітині і беручи участь у розвитку деяких захворювань, в тому числі неопластичних. Наші попередні дослідження показали, що цей білок ідентифікується як партнер для Bcr-Abl [1], а також виявили внутрішньоклітинну локалізацію цих обох білків (ендоплазматичний ретикулум та комплекс Гольджі).

Білок FBP 17 або FNBP 1 належить до родини PCN білків (pombe Cdc15 homology). Було встановлено, що однією з основних функцій білка FBP 17 є координація деформації мембрани з реорганізацією актинового цитоскелету в процесі ендоцитозу: білок, що кодується даним геном, сприяє CDC42-індукованій полімеризації актину, активації N-WASP-WIP комплексу і, отже, бере участь в сигналінгу від поверхні клітини до актинового цитоскелету [1].

Сигнальний шлях NF- κ B відіграє ключову роль в регуляції клітинної проліферації у відповідь на зовнішньоклітинні стимули [2]. Білок IKK β є однією з регуляторних ланок цього сигнального шляху та складовою частиною комплексу IKK α -IKK β -IKK γ . В складі IKK β присутні декілька функціональних доменів, зокрема LZ (leucine zipper — лецинова застібка), HLH (helix-loop-helix — спіраль-петля-спіраль) та кіназний домен. В неактивному стані білковий комплекс NF- κ B/RelA зв'язаний з інгібіторами I κ B α , I κ B β та I κ B γ . Його активація здійснюється за рахунок взаємодії IKK β з комплексом білків I κ B, внаслідок чого відбувається їх фосфорилування, від'єднання від NF- κ B/RelA та подальша протеасомна деградація. Кіназна функція IKK β активується внаслідок фосфорилування кіназного домену іншим білком партнером — IKK α . В той же час, активація IKK α активується його фосфорилуванням з боку IKK β . Таким чином, має місце взаємна активація цих двох білків у складі комплексу IKK α -IKK β -IKK γ [2].

Матеріали та методи

Колокалізацію PLC ϵ та PH домена Bcr-Abl вивчали за допомогою методу конфокальної мікроскопії. Для ко-трансфекції використовували клітини Cos-7 та експресуючі конструкції EGFP-PH та mRFP-PLC ϵ . Конструкції вводили в клітини за допомогою методу електропорації. Мікроскопію здійснювали за допомогою лазерного скануючого конфокального мікроскопу Nikon A1R MP.

Клонування цільової послідовності, що відповідає N-кінцевому домену білка FBP 17, здійснювали з використанням вектора експресії pGEX-4T-1, що містить GST-tag. Для експресії PH домена Bcr-Abl використовували вектор для експресії в клітинах прокаріотів pET32a-PH. Очищення білків здійснювали на GST-сефарозі та Ni-NTA-агарозі, відповідно до присутніх у білках міток. Дослідження зв'язування вищезазначених білків здійснювали за допомогою метода Far-Western blot, для якого використовували первинні антитіла — anti-His та anti-GST (1:2000), вторинні — anti-mouse (1:2000). В якості контролю використовували білок, експресований з порожнього вектора pGEX-4T-1.

Фрагмент повнорозмірної кодуючої послідовності IKK β було отримано за допомогою ПЛР з кДНК IKK β , яка міститься у векторі pCMV. Лігування проводилось по сайту розрізання SmaI у вектор pGEX 4T-2. Аналіз позитивних клонів проводився за допомогою розрізання по EcoRI сайту,

який міститься в сайті множинного клонування вектора, та на С-кінці фрагмента.

Результати та обговорення

Ко-локалізація PLC ϵ та РН домена Bcr-Abl. В результаті проведеної мікроскопії отримані такі результати (рис. 1.): РН домен Bcr-Abl локалізується переважно у цитоплазмі; PLC ϵ локалізується переважно в цитоплазмі; при ко-трансфекції обома білками спостерігається їхня ко-локалізація в ядрі клітини.

Визначення ко-локалізації PLC ϵ та РН домена Bcr-Abl всередині ядра може бути важливим свідченням про сигнальні процеси, в які можуть відбуватись в клітині, обумовлюючи її розвиток за пухлинним фенотипом. Наразі можна припустити, що міграція комплексу PLC ϵ — РН домен Bcr-Abl в середину ядра може спричинятись взаємодією РН домена з ліпідами. В такому разі потрібно вяснити, як змінюються сигнальні процеси при такій міграції і чи починають бути задіяними ті білки, які в нормі не беруть у них участь.

Визначення взаємодії N-кінцевого фрагмента FBP 17 та РН домена Bcr-Abl. Виходячи з отриманих результатів (рис. 2), можна зробити висновок про наявність взаємодії між FBP17 та РН доменом Bcr-Abl.

Взаємодія між FBP 17 та РН доменом Bcr-Abl може бути важливим фактом для пояснення ролі обох білків у прогресії захворювань системи крові. Так, відсутність РН домену у складі коротких форм білка Bcr-Abl спричиняє відсутність зв'язування з фосфатидилмонофосфатами, які є компонентами раних ендосом у клітині. Це може призвести до порушення сигнальних шляхів, що йдуть від поверхні клітини до актинового цитоскелету в процесі ендоцитозу. Крім того, відсутність Рн домена може бути одним із факторів, що порушують процес ендосомального сортиру при розвитку мієлопроліферативних захворювань.

Створення експресуючої конструкції, що несе фрагмент гена IKK β . Було здійснено лігування ампліфікованої за допомогою ПЛР повнороз-

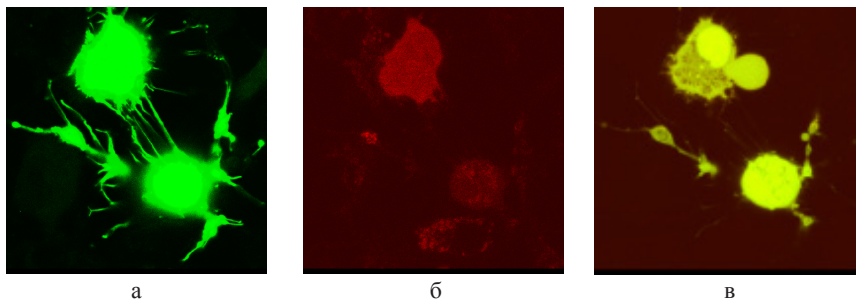


Рис. 1. Клітини Cos-7, трансфіковані РН доменом Bcr-Abl (а), PLC ϵ (б), РН доменом Bcr-Abl та PLC ϵ разом (в)

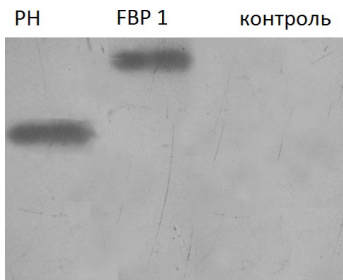


Рис. 2. Результат Far-Western blot аналізу взаємодії між FBP 17 та РН доменом Bcr-Abl: РН — очищений білок РН домена Bcr-Abl; FBP 1 — очищений білок FBP 17, що провзаємодіє з РН доменом; Контроль — білок, експресований з порожнього вектора рGEX-4T-1

мірної кодуючої послідовності ІКК β у бактеріальний експресуючий вектор рGEX 4T-2. Методом рестрикційного аналізу по EcoRI сайтам розрізання було підтверджено наявність 3 плазмід, що несуть вставку цільового фрагмента у правильній орієнтації.

Взаємодія ІКК β з РН доменом BCR/ABL, імовірно, може призводити до його активації з боку серин/треонінового кіназного домену BCR [2]. Як наслідок, його активація буде здійснюватись незалежно від ІКК β , та призведе до неконтрольованої активації проліферації через NF- κ B шлях. Для підтвердження взаємодії з РН доменом необхідно створити конструкцію для синтезу рекомбінантного білка ІКК β , з метою подальшого очищення та перевірки наявності взаємодії фар-вестерн гібридизацією.

Висновки

1. Досліджено ко-локалізацію PLC ϵ та РН домена Bcr-Abl. Виявлено, що ці два білки ко-локалізуються в ядрі.
2. Створено експресуючу конструкцію на основі вектора рGEX-4T-2, яка несе фрагмент послідовності білка ІКК β .
3. Виявлено взаємодію N-кінцевого домена білка FBP 17 з РН доменом Bcr-Abl.

Література

1. Dubrovskaya A., Kravchuk I., Tyutyunnykova A., Telegeev G. (2010) BCR as a key regulator of BCR-ABL dependent leukemogenesis. *Experimental Oncology*, Vol. 32, № 1, 157.
2. Häcker H., Karin M. Regulation and function of IKK and IKK-related kinases // *Sci. STKE*. — 2006. — № 13.
3. Perazzona B. et al. Kinase domain mutants of Bcr enhance Bcr-Abl oncogenic effects // *Oncogene*. — 2008. — Vol. 27. — P. 2208–2214.

Резюме

В роботі здійснено аналіз взаємодії РН домена білка Bcr-Abl з двома іншими білками: PLC ϵ та FBP 17, а також створено експресуючу конструкцію, що несе фрагмент гена ІКК β , яку буде використано для аналогічного аналізу взаємодії. Визначено

но, що PH домен Bcr-Abl взаємодіє з N-кінцевим доменом білка FBP 17, а також, що PH домен ко-локалізується разом з повнорозмірною PLCε в ядрі клітини.

В роботі проведено аналіз взаємодії між PH доменом белка Bcr-Abl і двома другими белками (PLCε і FBP 17), а также создана експрессирующая конструкция, несущая фрагмент гена IKKβ, которая будет впоследствии использована для аналогичного анализа взаимодействия. Определено, что PH домен белка Bcr-Abl взаимодействует с N-концевым фрагментом белка FBP 17, а также, что PH домен ко-локализуется с полноразмерной формой PLCε в ядре клетки.

The analysis of interaction between PH domain of Bcr-Abl and two other proteins (PLCε and FBP17) has been discovered. The expression construct with the fragment of IKKβ gene has been created. It has been shown that PH domain of Bcr-Abl interacts with N-terminal fragment of FBP17 protein, and PH domain co-localizes with PLCε in the nucleus.

ФЕДОТА А.М.¹, СОЛОДЯНКИН А.С.², РЫЖКО П.П.³, ВОРОНЦОВ В.М.³, РОЩЕНЮК Л.В.³

¹Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина МОН Украины
Украина, Харьков, 61077, пл. Свободы 4, e-mail: afedota@mail.ru

²ННЦ Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины НААН
Украина, Харьков, 61023, ул. Пушкинская 83, e-mail: alex_solod@mail.ru

³Харьковский областной клинический кожно-венерологический
диспансер № 1 МОЗ Украины

Украина, Харьков, 61052, ул. К. Маркса 17, e-mail: okkvd1@gmail.com

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ G1691A ГЕНА FV И G20210A ГЕНА FII У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ

Псориаз является распространенным мультифакториальным гено-дерматозом [1], различные формы которого приводят не только к инвалидизации больных, но и к нарушениям их социально-психологической адаптации. В мировой литературе представлены не только варианты различных моделей наследования псориаза, но и ряд кандидатных генов [1–5]; однако механизмы реализации этих генов в «псориатический фенотип» до сих пор не представлены. Генетическая гетерогенность, очевидно, объясняет клинический полиморфизм псориаза, поэтому не существует единого успешного подхода при лечении различных его форм, в то время как проблема персонализированной фармакотерапии в настоящее время особенно актуальна для частых мультифакториальных заболеваний, отличающихся клиническим полиморфизмом [6]. В связи с этим было бы актуально рассмотреть ассоциации генов и их функционально значимые аллельные варианты, обеспечивающие важнейшие метаболические процессы организма, с псориазом.

В проведенных ранее исследованиях и данных литературы показано, что у больных псориазом отмечается повышенный риск кардиоваскуляр-

ных и тромбозэмболических заболеваний. Как особенности патоморфологической картины при псориатической артропатии, в первую очередь отмечаются сосудистые нарушения — отек эндотелиальных клеток, воспалительная клеточная инфильтрация и утолщение стенок сосудов, склонность к развитию фиброзных контрактур [1,7,8]. Анализ ассоциации различных форм псориаза с сосудистыми нарушениями позволил выбрать для исследования полиморфизмы G1691A гена FV и G20210A гена FII системы свертываемости крови в качестве кандидатных для генной сети псориаза, поскольку в мировой литературе для генодерматозов не представлены данные о результатах исследований полиморфизмов этих генов, являющихся факторами риска развития нарушений с широким спектром клинических симптомов [9, 10].

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили образцы периферической крови 51 больного с различными формами псориаза, находящихся на диспансерном учете в ХОККВД № 1. От всех участников исследования или их родственников было получено письменное согласие на участие в данной работе. Выделение ДНК проводилось с помощью наборов для экстракции ДНК Diatom DNA Prep 100 производства фирмы Isogene Lab.Ltd. Реакция амплификации проведена с использованием наборов GenPak MTHFR PCR test производства фирмы Isogene Lab.Ltd на термочиклере BIOMRTRA T3000 по стандартной методике производителя.. Электрофоретический анализ проведен с помощью наборов для электрофореза производства фирмы АмплиСенс (Москва, Российская Федерация), в 2% и 3% агарозном геле. Маркером молекулярной массы служила ДНК Ladder M50. Примеры электрофореграмм представлены на рис. 1.

Разница частот генотипов оценивалась с помощью ф-преобразования Фишера путём угловой трансформации. Проверка статистических гипотез об ассоциации изученных аллелей и генотипов с заболеванием и оценка равенства рядов распределения проведена с помощью критерия χ^2 на уровне значимости 0,05 [11]. Относительный риск и доверительный интервал рассчитаны [12].

Результаты исследований и их обсуждение

Проведено молекулярно-генетическое исследование полиморфных локусов G1691A гена FV и G20210A гена FII у больных с различными формами псориаза (рис. 1).

Анализ показал, что у пробандов с артропатической формой псориаза отмечаются статистически значимо более высокие значения частот аллелей A генов FII ($pG=0,94$, $qA=0,06$) и FV ($pG=0,94$, $qA=0,06$), чем среди здорового населения — FII ($pG=0,985$, $qA=0,015$), FV ($pG=0,983$, $qA=0,017$), $p<0,05$. Частота гетерозиготного генотипа GA по генам FII и FV при артропатическом псориазе выше, чем в популяции (12% и 12% против 3%

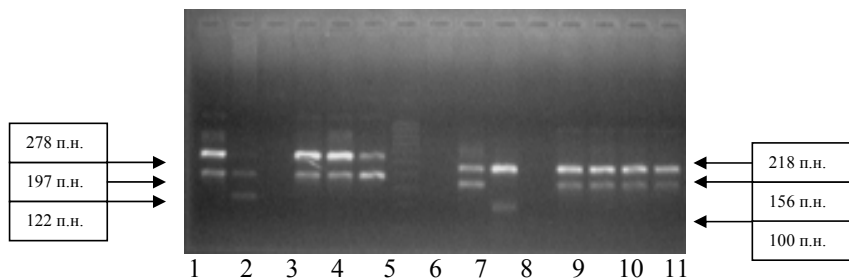


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов ПЦР специфической последовательности ДНК, генотипированной по SNP полиморфизмам G20210A гена FII и G1691A гена FV

FII –197 п.н.- гомозиготы по аллелю G; 197 п.н. и 122 п.н. — гетерозиготы GA; 122 п.н.— гомозиготы по аллелю A, 278 п.н.— внутренний контроль; FV — 156 п.н.— гомозиготы по аллелю G; 156 п.н.и 100 п.н.— гетерозиготы GA; 100 п.н. — гомозиготы по аллелю A, 218 п.н. — внутренний контроль

и 3,5%, соответственно, $p<0,05$), что делает его фактором риска развития артропатического псориаза.

Для прогнозирования вероятности развития обычного или артропатического псориаза у больных в зависимости от генотипа по генам FII и FV вычислено отношение шансов (OR) и 95% доверительный интервал (CI). Для пробандов-гетерозигот вероятность развития псориаза в целом увеличивается в 4,3 раза ($OR=4,31$, 95% CI 1,03–18,02, $p<0,05$), вероятность развития артропатического псориаза увеличивается в 7,8 раза ($OR=7,76$, 95% CI 1,83–33,21, $p<0,05$). Вероятно, это связано с тем, что полиморфные варианты генов факторов II и V системы свертываемости крови являются одними из основных генетических факторов склонности к тромбозам, и, соответственно, фактором риска развития рецидивирующих венозных тромбозов глубоких вен нижних конечностей, что может обуславливать предрасположенность к развитию псориапатической артропатии.

Анализ распределения комбинаций исследуемых полиморфных аллелей генов FII, FV и полиморфизмов C677 T и A1298 C гена MTHFR [13–16] в выборке больных псориазом не демонстрирует отклонения от равновесия по комбинациям полиморфных аллелей анализируемых позиций, что согласуется с результатами исследования здорового населения других отечественных авторов [17].

Выводы

Анализ частот аллелей и генотипов по полиморфизмам G1691A гена FV и G20210A гена FII, являющимся факторами риска развития нарушений с широким спектром клинических симптомов, у больных с различными формами псориаза показал актуальность их исследования у пробандов с артропатической формой заболевания.

Авторы выражают глубокую благодарность профессору кафедры генетики и цитологии ХНУ имени В. Н. Каразина Л. А. Атраментовой за консультации, д.вет. н., заведующему лабораторией молекулярной диагностики ННЦ «ИЭКВМ» А. П. Герилевичу за поддержку при выполнении исследования.

Литература

1. Рыжко П. П., Федота А. М., Воронцов В. М. Генодерматозы: буллезный эпидермолиз, ихтиоз, псориаз. — Харьков: Фолио, 2004. — 334 с.
2. Borgia P., Vallo L., D'Apice M. R. et al. Exclusion of CARD15/NOD2 as a candidate susceptibility gene to psoriasis in the Italian population // *Europ. J. Derm.* — 2002. — № 12. — P. 540–542.
3. Giardina E., Capon F., De Rosa M. C. et al. Characterization of the loricrin (LOR) gene as a positional candidate for the PSORS4 psoriasis susceptibility locus // *Ann. Hum. Genet.* — 2004. — № 68. — P. 639–645.
4. Kauffman C. L., Aria N., Toichi E. et al. A phase I study evaluating the safety, pharmacokinetics, and clinical response of a human IL-12p40 antibody in subjects with plaque psoriasis // *J. Invest. Derm.* — 2004. — № 123. — P. 1037–1044.
5. Nair R. P., Stuart P. E., Nistor I. et al. Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene // *Am. J. Hum. Genet.* — 2006. — № 78. — P. 827–851.
6. *Генетический паспорт* — основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В. С. Баранова. — СПб: Изд-во Н-Л, 2009. — 528 с.
7. Суворова К. Н., Антоньев А. А. Наследственные дерматозы. — М.: Медицина, 1977. — 232 с.
8. Беляев Г. М., Рыжко П. П. Псориаз. — С.-Пб.: Ореол, 1996. — 292 с.
9. Lijfering W. M., Middeldorp S., Veeger N. J. et al. Risk of recurrent venous thrombosis in homozygous carriers and double heterozygous carriers of factor V Leiden and prothrombin G20210A // *Circulation.* — 2010. № 121 (15). — P. 1706–12.
10. Segal J. B., Brotman D. J., Necochea A. J. et al. Predictive value of factor V Leiden and prothrombin G20210A in adults with venous thromboembolism and in family members of those with a mutation: a systematic review // *JAMA.* — 2009. — № 301 (23). P. 2472–85.
11. Атраментова Л. О., Утевська О. М. Статистичні методи в біології. — Харків, 2007. — 288 с.
12. Armitage P., Berry G. Statistical methods in medical research. 3rd ed. — Blackwell Scientific Publications, 1994. — 620 p.
13. Bagheri M., Rad I. A., Omrani M. D. et al. C677 T MTHFR and A1298 C Mutations in the Methylentetrahydrofolate Reductase Gene in Patients with Recurrent Abortion from the Iranian Azeri Turkish // *In. J. of Fert. And Ster.* — 2010. — № 3. — P. 134–139.
14. Martin D. N., Boersma B. J., Howe T. M. et al. Association of MTHFR gene polymorphisms with breast cancer survival BMC // *Cancer.* — 2006. — № 6. — P. 257.
15. Doolin M.-T., Barbaux S., McDonnell M. et al. Maternal genetic effects, exerted by genes involved in homocysteine remethylation, influence the risk of spina bifida // *Am. J. Hum. Genet.* — 2002. — № 71. — P. 1222–1226.
16. Ioannidis J. P., Ntzani E. E., Trikalinos T. A. 'Racial' differences in genetic effects for complex diseases // *Nat. Genet.* — 2004. — № 36 (12). — P. 1243–1244.

17. *Tatarskyi P., Kucherenko A., Livshits L.* Allelic polymorphism of F2, F5 and MTHFR genes in population of Ukraine // Цитология и генетика.— 2010.— Т. 44, № 3.— С. 3–8.

Резюме

На образцах ДНК 51 больных псориазом исследованы полиморфизмы G1691A гена FV и G20210A гена FII. Частоты аллелей генов FII и FV среди больных псориазом составили ($pG=0,94$, $qA=0,06$), ($pG=0,94$, $qA=0,06$). Частота гетерозиготного генотипа GA по генам FII и FV при артропатическом псориазе выше, чем в популяции (12% и 12% против 3% и 3,5%, $p<0,05$). Для пробандов-гетерозигот вероятность развития псориаза в целом увеличивается в 4,3 раза ($OR=4,31$, 95% CI 1,03–18,02, $p<0,05$), вероятность развития артропатического псориаза увеличивается в 7,8 раза ($OR=7,76$, 95% CI 1,83–33,21, $p<0,05$).

На зразках ДНК 51 хворих на псоріаз досліджено одонуклеотидні поліморфізми G1691A гену FV та G20210A гену FII. Частоти алелей генів FII та FV серед хворих на псоріаз складають $pG=0,94$, $qA=0,06$ та $pG=0,94$, $qA=0,06$, відповідно. Частота гетерозиготного генотипу GA по генах FII та FV при артропатичному псоріазі вища, ніж у популяції (12% та 12% проти 3% та 3,5%, $p<0,05$). Для пробандів-гетерозигот вірогідність розвитку псоріазу в цілому збільшується у 4,3 рази ($OR=4,31$, 95% CI 1,03–18,02, $p<0,05$), вірогідність розвитку артропатичного псоріазу збільшується у 7,8 рази ($OR=7,76$, 95% CI 1,83–33,21, $p<0,05$).

DNA samples from 51 psoriasis patients were studied for single nucleotide polymorphisms G1691A of FV gene and G20210A of FII gene. In patients allele frequencies were: FII — $pG=0,94$, $qA=0,06$, FV — $pG=0,94$, $qA=0,06$, respectively. In comparison with control psoriatic patients had more heterozygotes GA — 12,0% vs 3,0%, 3,5%. This investigation has suggested that heterozygosity for single nucleotide polymorphisms of FII and FV genes may be the potential factor for development of psoriatic arthropathia in Ukrainian population — $OR=7,76$, 95%, CI 1,83–33,21, $p<0,05$.

**ЧЕРЕДНИК Ю.О.¹, АНОПРІЄНКО О.В.², ГОРОВЕНКО Н.Г.³,
ФЕЩЕНКО Ю.І.¹**

¹ ДУ Національний інститут фізичної та пульмонології імені Ф.Г. Яновського АМН України, вул. М. Амосова, 10, Київ-680, 03680, Україна.

² Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, вул. Заболотного, 150, Київ-143, 03143, Україна.

³ Національна Медична Академія післядипломної освіти ім. Шупика П.Л. МОЗ України, вул. Дорогожичська, 9, м. Київ, 03112, Україна. E-mail: yurach@ukr.net

ПРОБЛЕМИ КОМПЛЕКСНОЇ ЛАБОРАТОРНОЇ ПЛР- ДІАГНОСТИКИ І ГЕНОТИПУВАННЯ ШТАМІВ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS В УКРАЇНІ

За даними звіту ВОЗ за 2011 рік у 2010 році в світі мали місце 8,8 мільйонів випадків захворювання ТБ і 1,45 мільйонів смертельних випадків від цієї хвороби [1]. В звіті вперше відзначено зменшення на глобальному рівні числа випадків захворювання на туберкульоз, яке спостерігається

ся з 2006 р. За даним ВОЗ в п'яти з шістьох регіонів світу (виключенням є Африканський регіон) успішно працюють над досягненням цілей, зазначеними в партнерській програмі «Зупинити ТБ», які полягають у двократно-му зниженні показників смертності від ТБ до 2015 р. у порівнянні з 1990 р. Тема наукових досліджень і розробок вперше обговорювалась в глобальній доповіді в рамках партнерської програми. В кінці 2010 р була впроваджена діагностична система Xpert MTB/RIF; готові до впровадження і інші тест-системи, які дозволяють проводити тестування на місці надання допомоги [1].

Незважаючи на надзвичайно велику кількість нових тестів, що розробляється в світі для діагностики туберкульозу і молекулярно-генетичному типуванню штамів *M.tuberculosis* (МБТ), продовжується робота з пошуку нових підходів та оптимізації вже існуючих стратегій виявлення і характеристики цього одного з найнебезпечніших патогенів людини [2]. Пошук геномної мішені або геномного маркера, при молекулярно-генетичному аналізі якого буде можливо діагностувати зараження МБТ, є досить складним завданням. Вибір маркера ускладнюється більшою спорідненістю геномів різних представників роду *Mycobacterium* та здатністю деяких інших ніж *M.tuberculosis* представників роду вражати людину (представники *M.tuberculosis* complex — МТК). В сучасних системах, для цілей виявлення й/або диференціації МБТ використовуються інсерційні послідовності (IS6110, IS901 та ін.), структурні гени (groB, gyrA, hsp65, hupB, ген 16S-23S rRNA, інші), мікобактеріальні розсіяні повторювані одиниці (MIRU) і регіони відмінності (RD послідовності) мікобактеріальної ДНК. Проблемою деяких маркерів виявлення МБТ є те, що вони відсутні у певної частини штамів і це призводить до помилок у діагностиці. Такі найбільш популярні маркери, як IS6110, hsp65 і mtp40 виявили цю властивість [3, 4]. Проте ця інформація при комплексній оцінці і в комбінації з іншими методами типування може бути цінною додатковою характеристикою штамів. Таким чином, діагностичні маркери можуть бути складовою комплексної стратегії типування.

При системному використанні молекулярно-генетичне типування є рутинною і ефективною процедурою, яка дозволяє підвищити ефективність діагностики, скоротити терміни лікування хворих на туберкульоз, поліпшити систему епіднадзора і контроль ефективності лікування, а також здійснити динамічне спостереження за шляхами розповсюдження мікобактерій в регіоні. Робота присвячена розробці простої у виконанні в умовах клінічної лабораторії заснованої на ПЛР стратегії генотипування *M.tuberculosis*, яка б ефективно доповнювала діагностичну інформацію.

Матеріали і методи

Виділення ДНК. Колонії *M.tuberculosis* отримували вирощуванням на середовищі Льовенштейна-Йенсена [5]. Виділення ДНК з бактеріальних колоній проводилось відповідно до протоколу в інструкції виробника тест-

системи «DNA extraction kit» (Seegene, Inc. Korea). Для ампліфікації використовували 15 мкл з 200 мкл супернатанту, що містив ДНК. З клінічних зразків (мокротіння, брохо-алвеолярний лаваж, ПVB) виділення ДНК проводилось відповідно до протоколу в інструкції виробника тест системи «АмплиСенс^ТМБТ» (Росія) з використанням сорбенту універсального. З 50 мкл кінцевого розчину ДНК для ПЛР використовували 3–5 мкл.

ПЛР. Полімеразну ланцюгову реакцію виконували за допомогою Taq-полімерази (Fermentas) у 20 або 30 мкл реакційної суміші, що містила 10х буфер для полімерази, 300 мкМ dNTP, по 10pmol прямого й зворотного праймерів, 1 од. Taq-полімерази і ДНК.

Для визначення делеції TBD1 використовували праймери TBD1intS.F TBD1intS.R і TBD1fla1-F TBD1fla1-R з [6]. ПЛР виконували як вказано в першоджерелі. Сконструйовані праймери, що охоплюють ділянку групо-специфічної мутації гену KatG у позиції 463: KatG-F1 і KatG-R1. Система праймерів на групо-специфічну мутацію в положенні 95 гену GyrA включала зовнішні праймери GyrA-F GyrA-R та праймер з модифікацією кінцевого нуклеотиду для створення сайту рестрикції GyrA95-Rm1.

Реакцію виконували на ампліфікаторі 2720Tc (Applied Biosystem, USA). Параметри ампліфікації для гену KatG були: 95 °C — 5хв, {94 °C — 25 сек, 64 °C — 25 сек, 72 °C — 25 сек}x30 циклів 72 °C — 2х в. Для зовнішніх праймерів гену GyrA — 95 °C — 5хв, {94 °C — 25 сек, 56 °C — 25 сек, 72 °C — 25 сек}x30 циклів 72 °C — 2х в. Для внутрішніх — 95 °C — 2хв, {94 °C — 25 сек, 56 °C — 25 сек, 72 °C — 15 сек}x30 циклів. Продукти ПЛР переосаджували спиртом і проводили обробку відповідними рестриктазами.

ETR-VNTR типування по локусах A, B, C, D, E проводили як вказано раніше [7].

Продукти ПЛР розділяли в агарозному (3 %, 1 %) або поліакриламідному (7 %) гелях в залежності від довжини продукту.

Результати і обговорення

На території України інформація про молекулярно-генетичні характеристики штамів *M.tuberculosis* досі представлена поодинокими дослідженнями, фрагментована і не системна [8, 9]. Проте інформативність методів генотипування зростає зі зростанням накопиченої інформації. Метод поліморфізму довжин рестриційних фрагментів з використанням гібридизаційного зонду на інсерційну послідовність IS6110 (IS6110-ПДРФ) досі залишається своєрідним «золотим стандартом» методів типування клінічних ізолятів МБТ. Проведені дослідження дозволили створити в різних країнах локальні колекції і бази даних, що містять більше 50000 охарактеризованих ізолятів *M.tuberculosis*. Стандартизація методу дозволяє порівнювати ДНК-відбиток між окремими лабораторіями і створювати бази даних IS6110-ПДРФ генотипів мікобактерій. Проте в Україні цього не було зроблено, а відомі складності методу, пов'язані з його трудомісткістю, потребою в значній кількості бактеріальної маси для виділення ДНК і необ-

хідністю технологічного оснащення для генотипування, вказують на те, що цей метод навряд чи можливо використовувати в якості рутинного [10].

Застосування інших методів на основі ПЛР (ETR-VNTR, споліготипування) сприяє скороченню термінів проведення експерименту завдяки можливості використання невеликих кількостей досліджуваного матеріалу і відсутності тривалих і трудомістких етапів типування. Однак, метод IS6110-RFLP має більшу дискримінуючу здатність в порівнянні з ETR-VNTR і споліготипуванням [7, 10]. В такому разі, методи з меншою дискримінуючою здатністю можуть бути використані для довготривалих і широкомасштабних досліджень структури, популяції мікобактерій, еволюції їх патогенності, встановлення джерел клональної дисемінації штамів мікобактерій [7]. Більш швидко-еволюційючі маркери IS6110 і ETR-повтори є ідеальними мішенями для цілей практичної медицини таких, як розслідування випадків госпітальних спалахів, викликаних полірезистентними штамми, контроль якості лікування хворих, розслідування контактних випадків у вогнищах туберкульозу і виявлення лабораторної контамінації. Важливо відзначити, що методи IS6110-RFLP, VNTR-типування і споліготипування, направлені на виявлення різних геномних елементів, можуть ефективно доповнювати один одного.

На основі даних про поліморфізм поодиноких нуклеотидів (SNP), а також довгих поліморфних локусів (LSP) нами було розроблено комплексну стратегію генотипування, що складається з трьох етапів ПЛР і двох реєстраційних аналізів. Ця стратегія зоснована на еволюційній дивергенції трьох принципових генотипічних груп (ПГГ) I, II, III) сучасних штамів *M.tuberculosis* [6] та доповнена ETR-VNTR типуванням (рис. 1).

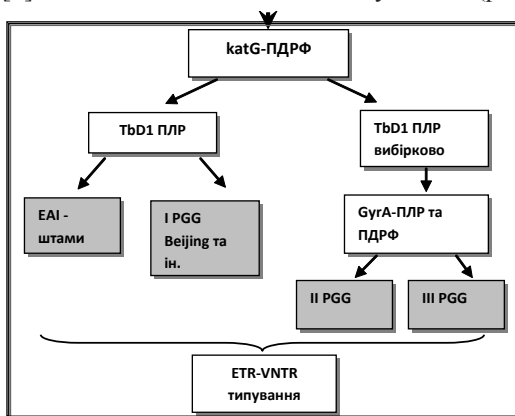


Рис. 1. Стратегія генотипування на базі ПЛР трьох принципових генотипічних груп (ПГГ) I, II, III) сучасних штамів *M.tuberculosis*, зоснована на характерних SNP та делеції TbD1. EAI — «Eastern, African, Indian» предкові штамів *M.tuberculosis*

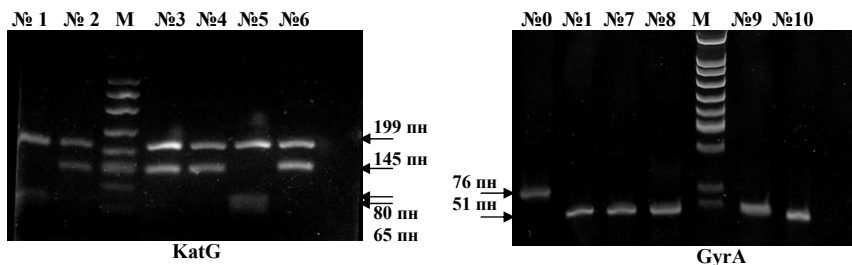


Рис. 2. ПДРФ фрагментів генів KatG і GyrA, що дозволяє відрізнити штами принципів генотипічних груп *M.tuberculosis*. У випадку гену KatG зразки № 1 і № 5 відносяться до II або III пгг, а зразки № 2, № 3, № 4 і № 6 до I пгг або з меншою вірогідністю до предкових EAI штамів, що характеризуються присутністю району, що делетований у сучасних штаммах (TbD1). ПДРФ фрагменту гену GyrA дозволяє відрізнити групу III (зразок № 0 — H37Rv) і I/II (зразки № 1-№ 10). Таким чином зразки № 1 та № 5 з аналізу KatG за результатами другого ПДРФ віднесли до II пгг

При розробці праймерів враховувався природно виникаючий поліморфізм у гені KatG, а для гену GyrA у праймер було внесено зміну кінцевого нуклеотиду для створення сайту рестрикції у випадку мутації, що відповідає за поділ на дві групи (рис. 2).

ПЛР на делецію TbD1 складається з двох реакцій, результати яких підтверджують одне одну, і її віднесення в стратегії на другу позицію (на відміну від послідовності в еволюційному сценарії) дозволяє скоротити кількість реакцій в цілому. Усі зразки, що за даними KatG-ПДРФ були віднесені до групи I пгг і предкових штамів виявляли делецію TbD1, тобто представляли сучасні штами I генотипової групи, до якої належать штами найбільш розповсюдженого сімейства Beijing і деякі інші.

За даними комплексного аналізу 10 зразків культур МБТ 8 зразків було віднесено до I пгг і 2 зразки — до II пгг (на Рисунок 2, зразки № 1 і № 5), до якої відносять широко розповсюджені штами сімейства LA-M та Haarlem. За даними ETR-VNTR були виявлені генотипи з наступними профілями: 2 зразки другої пгг мали генотипи 22232, що відносять до сімейства LA-M; у I групі 5 зразків мали генотип 42435 і один штам 42432, які відносять до сімейства Beijing, останні 2 штами мали генотипи 22434, що рідше зустрічається і які відносять до групи генотипів індивідуального профілю (ГІП).

Таким чином, розроблена стратегія генотипування зручна і швидка у виконанні може ефективно доповнювати діагностичну інформацію і бути складовою комплексної стратегії молекулярно-генетичної характеристики штамів *M.tuberculosis* в Україні.

Література

1. ВОЗ. Доклад о глобальной борьбе с туберкулезом, 2011 г. http://www.who.int/tb/publications/global_report/ru/index.html.
2. Halse T.A., Edwards J., Cunningham P.L. et al. Combined Real-Time PCR and rpoB gene pyrosequencing for rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* and determination of rifampin resistance directly in clinical specimens // J. of Clin. Microbiol. — 2010, V. 1. — P. 1182–1188.
3. Vera-Cabrera L., Hernandez-Vera M.A., Welsh O., Johnson W.M., and Castro-Garza J. Phospholipase region of *Mycobacterium tuberculosis* is a preferential locus for IS6110 transposition // J. Clin. Microbiol. — 2010. — V. 39. — P. 3499–3504.
4. Yuen L.K., Ross B.C., Jackson K.M., Dwyer B. Characterization of *Mycobacterium tuberculosis* strains from Vietnamese patients by Southern blot hybridization // J. Clin. Microbiol. — 1993. — V. 31. — P. 1615–1618.
5. Наказ МОЗ України № 45 від 06.02.2002 «Про затвердження інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції» (складена під керівництвом Фещенко Ю.І., Журило О.А., Клименко М.Т., та ін.) // Зб. норм.-директ. документів з охорони здоров'я. — 2002. — № 2. — С. 63–111.
6. Brosch R., Gordon S.V., Marmiesse M., et al. A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2002. — V. 99. — P. 3684–3689.
7. Сурикова О.В., Войтих Д.В., Курунов Ю.Н., Филипенко М.Л. Опыт использования VNTR-типирования *Mycobacterium tuberculosis* для решения клинических задач: контроля за качеством лечения и работой лабораторной службы // Мол. Ген. Микробиол. Вирол. — 2005. — № 2. — С. 21–24.
8. Наукові розробки інституту фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського АМН України за 10 років / Фещенко Ю.І., Мельник В.М., Петренко В.М. та ін. // Укр. пульмонолог. журн. — 2001. — № 2. — С. 5–13.
9. Николаевский В.В., Дробниевски Ф.А., Бажора Ю.И. Молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Mycobacterium tuberculosis*, выделенных в южном регионе Украины // Цитология и генетика. — 2004. — № 4. — С. 23–28.
10. Чередник Ю.А., Аноприенко О.В., Фещенко Ю.И. Молекулярно-генетическое типирование клинических изолятов *Mycobacterium tuberculosis* в Украине // Український пульмонологічний журнал. — 2005 — № 4. — С. 66–68.

Резюме

На основе быстрых и простых в лабораторном исполнении методов ПЦР и ПДРФ разработана комплексная стратегия генотипирования распространенных на территории Украины штаммов *M.tuberculosis*.

На основі швидких і зручних у лабораторній практиці методів ПЛР і ПДРФ розроблено комплексну стратегію генотипування розповсюджених на території України штамів *M.tuberculosis*.

On the base of simple and convenient PCR and RFLP techniques complex and clinical laboratory-suitable strategy of genotyping of *M.tuberculosis* strains disseminated in Ukraine was proposed.

**GHALI Z.H.^{1,2}, AHMED I.H.^{1,2}, GORSHUNSKA M.YU.³,
POCHERNYAEV A.K.⁴, ATRAMENTOVA L.A.^{2,4}**

¹Department of Biology, College of Science, University of Wasit, Iraq;

²V.N. Karazin Kharkiv National University, Ukraine, 61022, Kharkiv, Svoboda sq., 4;

³Kharkiv Postgraduate Medical Academy, Ukraine, 61176, Kharkiv, Korchagintsv str. 58

⁴S.I. «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of NAMS of Ukraine»,
Ukraine, 61002, Kharkiv, Artyoma str., 10; e-mail: atramentova@yandex.ru

SNP OF *CRP* GENE AND RISK OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN UKRAINIAN POPULATION

C-reactive protein (CRP) is a component of the acute-phase response and a marker of chronic inflammation, which has important roles in the comorbidities that accompany obesity, dyslipidemia, type 2 diabetes and cardiovascular diseases [1–4]. C-reactive protein (CRP) has been shown to play a role in atherosclerosis [5]. CRP levels are elevated in people with type 2 diabetes mellitus [6,7]. *CRP* gene is located on the first chromosome (1q21-q23) which composed of 1 intron separating 2 exons. The first exon encodes a signal peptide and the first 2 amino acids of the mature protein. This is followed by a 278-nucleotide-long intron that includes a GT repeat sequence. The second exon encodes the remaining 204 amino acids, followed by a stop codon [8, 9]. Increased CRP levels seem to be independent of CRP 1059G/C gene polymorphism in our group of type 2 diabetes patients [10]. Since 40% heritability has been suggested for CRP levels [11], genetic polymorphisms of CRP have become a matter of interest in prediction of cardiovascular events. A recent investigation has contradicted the effect of rs3093059, rs2794521, rs3091244, rs1417938, rs1800947 (1059 G/C), rs1130864, and rs1205 haplotypes on diabetes risk [12]. Although common genetic variants of the *CRP* gene have been associated with diabetes mellitus in several populations, relatively few studies have comprehensively assessed this association in multiethnic populations like Ukrainian one. In this study we aimed to determine the frequency of SNP rs3093059 of *CRP* gene and investigate this polymorphism in a group of Ukrainian type 2 diabetes patients and healthy people.

Materials and methods

In a case-control study DNA of 50 patients with type 2 diabetes and 45 healthy men and women, russians and ukrainians have been investigated with the written agreement of people. DNA was separated from leucocytes with a help of ion-exchange gum Chelex-100. One-nucleotide replacement 757C/T, which results in a change of the amino-acid sequence of C-reactive protein was determined by amplification in the polymerase's chain reaction TaqI endonuclease. We used forward (GCTATGTCTGTGATCAGGCA) and reverse (CCAAACACCGCATGTTCTC) primers. DNA *pUC19* was hydrolized with endonuclease *MspI*. The DNA fragments were separated after restriction with the help of electrophoresis in 2% agarose gel. The electrophoregram of PCR-

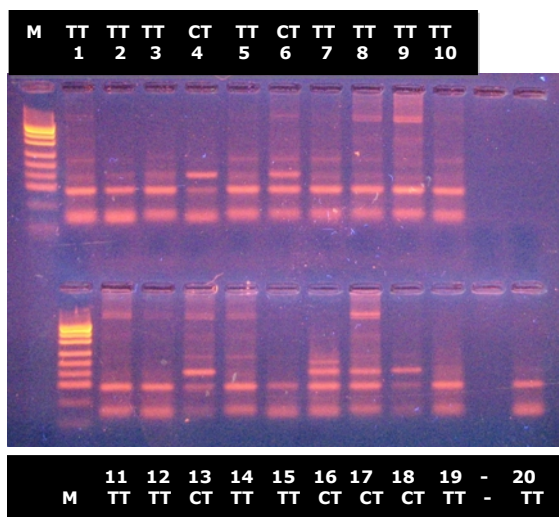


Fig. 1. Electrophoregram of PCR product of specific sequence of DNA genotyped on SNP-polymorphism of *CRP* gene (M — DNA marker; *TT*, *CT* — genotypes)

products (Fig. 1) provides insight into genotypes of donors of the *CRP* gene. One band which corresponds to DNA fragment 148 bp (was not observed) indicates a *CC* genotype. In sample 1–3, 5, 7–12, 14, 15, 19, 20 (genotype *TT*) two bands present DNA fragments with lengths 97 and 51 bp. Three bands (148, 97 and 51 bp) in samples 4, 6, 13, 16–18 indicate the *CT* genotype.

When comparing the frequencies of genotypes and alleles the χ^2 test with Yates correction was used. The odds ratio (OR) and relative risk (RR) were calculated. To calculate the statistical errors of frequencies and fractions, their confidence intervals were calculated using ϕ -transformation and the criteria *F*. The evaluation of the statistical power of the study was conducted according to [13]. The check up of statistic hypotheses about the association of the studied alleles with type 2 diabetes mellitus was conducted with a help of χ^2 criteria in the significance level $p \leq 0.05$.

Results and discussion

T allele is a major one in the studied population. This allele is more common in healthy people (0.92) than in patients with type 2 diabetes (0.86, $p > 0.05$). The minor allele in patients with type 2 diabetes mellitus is found 1.75 times more frequently than in healthy (0.14 and 0.08). The patients with type 2 diabetes mellitus are more likely to own *TC* genotypes. The individuals with genotype *CC* have not been detected in the studied groups (Table 1). These preliminary data can be considered as pilot ones. These data give reason to assume that *C* is a predisposing allele to type 2 diabetes mellitus.

Table 1

The genotypes of type 2 diabetes mellitus patients and healthy people

			Genotype			Allele	
			<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>	<i>T</i>	<i>C</i>
T2DM	<i>n</i>	50	36	14	0	0.86	0.14
	%	100.0	72.0	28.0	0.0		
Control	<i>n</i>	45	38	7	0	0.92	0.08
	%	100.0	84.4	15.6	0.0		
Statistics	Genotypes: $\chi^2 = 1.5$; $\chi^2_{(0.05)} = 3.8$; $p > 0.05$						
	Allele frequencies: $\chi^2 = 1.3$; $\chi^2_{(0.05)} = 3.8$; $p > 0.05$						

Table 2

The relative risk (RR) and odds ratio (OR)

Characteristics, indicators	Genotype	
	<i>TT</i>	<i>TC</i>
Type 2 diabetes mellitus, %	72.0±6.41	28.0±6.41
Control, %	84.4±5.47	15.6±5.47
Relative risk, <i>RR</i>	0.85±0.11	1.79±0.42
95 % Confidence interval <i>RR</i>	0.63–1.07	0.95–2.63
Odds ratio <i>OR</i>	0.47	2.11
95 % Confidence interval <i>OR</i>	0.22–1.75	0.75–5.99

Consider the feasibility of conducting further research to achieve the required level of significance. The fraction of the *TC* genotype among the patients is two times more than in the healthy group. Confidence intervals of relative risk (*RR*) and odds ratio (*OR*) include the unit (Table 2) and are not statistically significant, however, the *TC* genotype increases the probability of contracting type 2 diabetes mellitus (*RR* = 1.79; *OR* = 2.11) whereas *TT* genotype decreases this probability (*RR* = 0.85; *OR* = 0.47).

In order to achieve 80% level of statistical power and 0.05 significance level it is necessary to investigate the genotypes of 374 people, 187 people in each group. If there is sufficient statistical arguments single nucleotide polymorphism *CRP* can claim to be one of the many predictors of predisposition to the development of type 2 diabetes mellitus.

References

1. Chen T.H., Gona P., Sutherland P.A., Benjamin E.J., Wilson P.W., Larson M.G. *et al.* Long-term C-reactive protein variability and prediction of metabolic risk // *Am. J. Med.* — 2009. — Vol. 122. — P. 53–61.
2. Currie C.J., Poole C.D., Conway P. Evaluation of the association between the first observation and the longitudinal change in C-reactive protein, and all-cause mortality // *Heart.* — 2009. — Vol. 94. — P. 457–462.
3. Hu G., Jousilahti P., Tuomilehto J., Antikainen R., Sundvall J., Salomaa V. Association of serum C-reactive protein level with sex-specific type 2 diabetes risk: a prospective finnish study // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 2009. — Vol. 94. — P. 2099–2105.
4. Jiang S., Bao Y., Hou X., Fang Q., Wang C., Pan J. *et al.* Serum C-reactive protein and risk of cardiovascular events in middle-aged and older Chinese population // *Am. J. Cardiol.* — 2009. — Vol. 103. — P. 1727–1731.

5. Jialal I., Devaraj S., Venugopal S.K. C-reactive protein: risk marker or mediator in atherothrombosis? // Hypertension. — 2004. — Vol. 44. — P. 6–11.

6. Kang E.S., Kim H.J., Kim Y.M., Lee S., Cha B.S., Lim S.K., Kim H.J., Lee H.J.. Serum high sensitivity C-reactive protein is associated with carotid intima-media thickness in type 2 diabetes. Diabetes Res Clin Pract 2004; 66: 115–20.

7. Sigurdardottir V., Fagerberg B., Hulthe J. Preclinical atherosclerosis and inflammation in 61-year-old men with newly diagnosed diabetes and established diabetes. Diabetes Care 2004; 27: 880–4.

8. Woo P., Korenberg J.R., Whitehead A.S. Characterization of genomic and complementary DNA sequence of human C-reactive protein, and comparison with the complementary DNA sequence of serum amyloid P component. J. Biol Chem 1985; 260: 13384–8.

9. Lei K.J., Liu T., Zon G., Soravia E., Liu T.Y., Goldman N.D. Genomic DNA sequence for human C-reactive protein. J Biol Chem 1985; 260: 13377–83.

10. Morita A., Nakayama T., Doba N., Hinohara S., Soma M. Polymorphism of the C-reactive protein (CRP) gene is related to serum CRP level and arterial pulse wave velocity in healthy elderly Japanese. Hypertens Res 2006; 29: 323–31.

11. Pankow J.S., Folsom A.R., Cushman M., Borecki I.B., Hopkins P.N., Eckfeldt J.H., Tracy R.P. Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: the NHLBI family heart study. Atherosclerosis 2001; 154: 681–9.

12. Zee R.Y., Germer S., Thomas A., Raji A., Rhee B., Ridker P.M., Lindpaintner K., Williams G.H., Nathan D.M., Martin M. C-reactive protein gene variation and type 2 diabetes mellitus: a case-control study. Atherosclerosis 2008; 197: 931–6.

13. Armitage P., Berry G. Statistical methods in medical research. — Blackwell Scientific Publications. — London, 1994. — 620 p.

Резюме

Генотипированы по SNP *CRP* (ген С-реактивного белка) 50 больных сахарным диабетом 2 типа (СД 2) и 45 здоровых мужчин и женщин, украинцев и русских. Мажорным аллелем в изученном населении является *T* (0,86 у больных и 0,92 у здоровых). У больных СД 2 статистически не значимо чаще встречается минорный аллель *C* (0,14) по сравнению со здоровыми (0,08).

50 patients with type 2 diabetes mellitus (DM 2) and 45 healthy men and women, Ukrainian and Russian were genotyped for the SNP rs3093059 *CRP* gene (C-reactive protein gene). The major allele in the population under study is *T* (0.86 in patients and 0.92 in healthy people). The minor allele *C* is more frequent in the patients (0.14) than in healthy people (0.08). The difference is not statistically significant.

За SNP *CRP* (гену С-реактивного білку) генотиповано 50 хворих на цукровий діабет 2 типу (ЦД 2) і 45 здорових чоловіків і жінок, українців і росіян. Алель *T* є мажорним у вивченому населенні (0,86 у хворих і 0,92 у здорових). У хворих на ЦД 2 статистично не значуще частіше зустрічається міно́рний алель *C* (0,14) порівняно із групою здорових (0,08).

АРАЛОВ В. І.

*Інститут кормів та сільського господарства Поділля НААН України
Україна, 21100, Вінниця, проспект Юності, 16
e-mail: aralov2912@meta.ua*

ВИКОРИСТАННЯ ТРАНСГРЕСІЙ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК ПРОДУКТИВНОСТІ В СЕЛЕКЦІЇ ГОРОШКУ ПОСІВНОГО (ВИКИ ЯРОЇ)

Одним з головних завдань селекції горошку посівного є створення високопродуктивних по кормовій масі і зерну з високим адаптивним потенціалом сортів. Для успішної селекційної роботи, основним методом якої є гібридизація з послідувачим індивідуально-сімейним добром, необхідно володіти повною інформацією про вихідний матеріал, який залучається до гібридизації. В цьому плані одним з ефективних напрямків створення перспективного матеріалу є використання трансгресивної селекції, яка базується на визначенні і відборі найбільш продуктивних родоначальних рослин з гібридних популяцій. При розщепленні гібридних популяцій в другому поколінні відмічається суттєве зростання мінливості ознак в порівнянні з вихідними батьківськими формами, тому з'являється можливість отримати позитивні трансгресивні форми, які утворюються в результаті рекомбінації генів які визначають різні господарсько-цінні ознаки.

Тому аналіз даних прояву генетично обумовлених ознак і залежності їх від умов довкілля, а також ймовірності отримання трансгресивних форм з гібридних популяцій, набуває суттєвого значення в практичній селекції горошку посівного (вики ярої).

Матеріали і методи

Дослідження проводились в інституті кормів та сільського господарства Поділля НААН України. Проведено комплекс досліджень по вивченню морфо-біологічних, кількісних ознак вихідних батьківських форм і гібридів різних поколінь, які визначають рівень кормової і зернової продуктивності рослини, їх варіабельність, ступень і частоту появи трансгресивних форм за методикою Воскресенської- Шпота [1].

Матеріалом досліджень були сорти горошку внесені в Реєстр сортів рослин України: Вінницька 30, Прибузька 19, Подільська 9, Маргарита, Аріадна, Світлана, Ірина, Ліліана, Владіслава, Білоцерківська 7, Віаріка, Білоцерківська 96, Спутниця, та інші, а також колекційні сортозразки різного еколого-географічного походження, та гібриди, отримані в результаті гібридизації за повною (повний топкрос), або неповною схемою діалельних

схрещувань (неповний топкрос) за методом Гріфінга [6], також гібриди від простих та насичуючих схрещувань. Для структурного аналізу відбирали по 30 рослин кожного зразку. Математична обробка експериментальних даних проведена за методикою Доспехова [3].

Результати та обговорення

Результати математичної обробки показників кількісних елементів кормової і зернової продуктивності за даними структурного аналізу рослин вихідних батьківських форм та гібридів другого — третього покоління горошку посівного свідчать про появу трансгресивних форм в гібридних популяціях по масі сухої речовини, ступінь трансгресії (T_c) яких складає 5–20% з частотою T_{ch} = 8–17%, причому це обумовлюється в основному появою трансгресій по висоті, кількості гілок та листків у гібридів створених від схрещування високопродуктивних форм, які суттєво не відрізняються між собою по масі сухої речовини. Ступінь трансгресії T_c складає до 12% при T_{ch} до 11%. Аналогічна тенденція прослідковується і в гібридних популяціях третього покоління, але суттєво зростає кількість трансгресивних, добре розгалужених форм при T_c = 20–60%, T_{ch} = 13–27% і як наслідок з підвищеною облистяністю. При використанні для гібридизації різко контрастних форм по масі сухої речовини не виявлено гібридних рослин які перевищують більш продуктивну батьківську форму. Наявність високопродуктивних по масі сухої речовини рослин, обумовлено в більш значній мірі появою форм з високим гілкуванням (T_c = 15%, T_{ch} = 26%) ніж високорослих (T_c = 5–8%, T_{ch} = 6–10%).

По насіннєвій продуктивності більш позитивні результати по виявленню трансгресивних рослин отримані у гібридів, батьківські форми яких характеризуються високою продуктивністю, а за материнську форму використані сорти власної селекції, котрі більш повно пристосовані до конкретних ґрунтово-кліматичних умов.

В популяціях F_2 створених по такій формі виявлені трансгресивні форми по масі насіння з рослини с показниками на рівні T_c = 100%, T_{ch} = 20%, по кількості бобів і зерен на рослині відповідно T_c = 65%, T_{ch} = 24%, та T_c = 102%, T_{ch} = 22%.

У гібридних популяціях створених за іншими схемами отримана незначна кількість трансгресивних форм з невисоким показником продуктивності.

Необхідно відмітити про те, що в третьому поколінні гібридних популяцій, в порівнянні з другим, прослідковується підвищення амплітуди варіювання більшості господарсько-цінних ознак в середньому на 10–15% в зв'язку з продовженням процесу розчеплення популяцій і появою нових форм з високим ступенем гілкування, а ця ознака досить тісно корелює як з масою сухої речовини рослини так із масою зерен на рослині.

Для практичної селекції найбільш актуальним є не тільки виявлення в гібридних популяціях трансгресивних по окремим ознакам продуктивності

Таблиця 1

Змінність кількісних ознак у сортів вики посівної

№ з/п	Ознака	Середній коефіцієнт варіювання, V%	Частка впливу факторів (%)			
			сорт	рік	взаємодія сорту і року	випадкові відхилення
1	Маса 1000 насінин	14,5	27,8	15,0	26,6	30,6
2	Висота рослини	14,8	23,2	21,5	22,0	33,3
3	Довжина боба	15,0	26,0	18,6	28,0	27,4
4	Кількість зерен в бобі	23,2	25,7	20,4	28,5	25,4
5	Кількість гілок	25,8	17,2	27,1	23,5	32,2
6	Кількість непродуктивних вузлів до1 боба	26,4	25,0	19,4	21,8	33,8
7	Маса сухої речовини рослини	44,0	15,2	29,7	18,2	36,9
8	Кількість продуктивних вузлів	38,7	16,8	31,1	22,1	30,0
9	Кількість бобів на рослині	48,5	17,1	34,8	22,3	25,8
10	Кількість насінин на рослині	49,4	15,3	42,7	17,3	24,7
11	Маса насіння з рослини	52,3	14,8	47,8	14,4	23,0

X) сума факторів складає 100 %.

форм рослин, але в більшій мірі трансгресивних по загальній продуктивності рослин по кормовій масі та зерну. На початкових етапах селекційного процесу, згідно схеми селекції, вивчення відібраних родоначальних рослин проводиться в селекційному розсаднику на 1 рядкових ділянках з розрідженим стоянням рослин. А це в значній мірі впливає на ріст загальної амплітуди варіабельності продуктивності рослини і зростанням впливу на варіабельність навколишнього середовища. Тому більшість трансгресивних рослин виявлених при відборі в подальшому вивчені виявляється лише модифікаціями — не обумовленим генотипом формами з продуктивністю на рівні вихідних батьківських форм, на що вказують в своїх дослідженнях [2, 4, 5]. Для вирішення цього негативного фактору нами при оцінці трансгресивності рослин, враховується варіабельність ознак в гібридних популяціях та вихідних формах і вплив на її показник генотипу. При оцінці нащадків відібраних трансгресивних форм на першому етапі (селекційний розсадник) трансгресивними формами ми вважаємо такі, що перевищують (в%) середній показник продуктивності стандартного сорту не нижче $\frac{1}{2}$ коефіцієнту варіабельності кормової і зернової продуктивності з врахуванням, що кількість нащадків які перевищують (X-ср) стандарту, або поступаються йому — однакова.

Основним матеріалом для практичної селекції залишаються лише позитивні трансгресії. Так, наприклад, варіабельність маси зерен на рослині

складає 50%, а частка впливу генотипу не перевищує 0,15. Продуктивність селекційного номеру, перспективного на наш погляд, в даному випадку повинна перевищувати стандартний сорт не нижче 25%, а ймовірність приросту продуктивності, обумовленої генотипом у таких нащадків, значно вища ніж номерів, у яких прирост до стандарту складає менше 25%.

При вивченні трансгресивних форм в контрольному розсаднику, попередньому та конкурсному сортовипробуваннях при стандартній нормі висіву на рівні 1,5 млн схожих зерен на 1 га варіабельність загальної продуктивності та кількісних ознак, які її обумовлюють, стабілізується, коефіцієнт зменшується, а питома вага впливу генотипу в загальній варіабельності зростає, тому кількість нащадків з позитивними трансгресіями які при подальшому вивченні підтверджують свою високу продуктивність значно більша ніж при використанні інших методів оцінки.

Висновки

Аналіз створених трансгресивних гібридних форм горошку свідчить про те, що позитивний результат реально отримувати при гібридизації вихідних форм з високою і близькою за своїми параметрами продуктивністю, а за материнську — використовувати пристосовані до конкретно ґрунтово-кліматичних умов форми. При такій схемі з'являється максимальна кількість з позитивною трансгресією форм з яких в процесі селекційної роботи вдається виділити перспективні високопродуктивні селекційні номери.

Використовуючи в практичній селекції горошку (вики ярої) результати досліджень по створенню, виявленню та оцінці трансгресивних високопродуктивних по кормовій масі і зерну форм, автору вдалося створити за останні шість років 5 нових сортів горошку, з яких сорт Ліліана з 2008 року внесено в Реєстр сортів рослин України по всіх зонах та признаний Держслужбою з охорони прав на сорти рослин за національний стандарт, сорт Владіслава внесено по зоні Лісостепу з 2010 року, сорт Єлізавета — по зонах Лісостепу і Полісся з 2012 року. Ще два сорти вивчаються в ДСВ. Урожайність зеленої маси суміші вики з вівсом цих сортів складає 30–49 т/га, сіна суміші 6,2–9,8 т/га, зерна 2,0–3,5 т/га при тривалості вегетаційного періоду 87–98 днів. Збір сирого протеїну досягає 1,0 т/га.

Література

1. *Воскресенская Г. С., Шнота В. И.* Трансгресия признаков у гибридов и методика качественного учета этого явления. — Докл. ВАСХНИЛ. — 1967. — № 7. — С. 18–20.
2. *Гармаш Е. С.* Изменчивость количественных признаков у вики посевной. Бюлл. НТИ. ВНИИЗБК, Орел. — 1981. — Вып. 28. — С. 28–29.
3. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта. — 5 е изд. М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
4. *Драгавцев В. А.* Новые принципы отбора генотипов по количественным признакам селекции растений. — Вкн.: Генетика количественных признаков с.-х. растений. — М. — 1978. — С. 5–9.

5. Литун П. П. Приемы уменьшения фенотипической изменчивости и ее компонентов на разных этапах в селекции Вкн.: Генетика количественных признаков с.-х. растений. — М.: Наука. — 1978. — С. 93–100.

6. Griffing B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel-crossing systems // Austr. J. Biol. Sci. — 1956. — P. 463–493.

Резюме

Наведено результати досліджень трансгресивних форм горошку посівного (вики ярів). Визначено і апробовано результатами практичної селекції схему підбору вихідних форм для гібридизації з метою створення перспективних трансгресивних форм з високим потенціалом кормової і зернової продуктивності.

Приведены результаты исследований трансгрессивных форм горошка посевного (вики яровой). Определены и апробированы результатами практической селекции схему подбора исходных форм для гибридизации с целью создания перспективных трансгрессивных форм с высоким потенциалом кормовой и зерновой продуктивности.

The results of studies transgressive forms of pea seeds (spring vetch). Defined and tested the results of practical breeding scheme selection output forms for hybridization to a promising transgressive forms with high potential forage and grain production.

БУРДЕНЮК-ТАРАСЕВИЧ Л. А.

*Институт биоэнергетических культур и сахарной свеклы НААН Украины, Украина, 09176, Белоцерковский р-н, п/о Мала Вильшанка, Селекционная станция
e-mail: Burdenyuk@gmail.com*

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ЧЕРНОБЫЛЬСКИХ РАДИОМУТАНТОВ В КАЧЕСТВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

В процессе селекции на высокую продуктивность сорта за счет увеличения доли рецессивных генов частично утратили доминантные гены, которые отвечают за адаптацию к неблагоприятным условиям развития и были унаследованы в процессе природного отбора [1]. Перед селекционерами стоит проблема создания сортов с повышенной гомеостатичностью, т.е. со свойством противостоять неблагоприятным факторам окружающей среды и возможностью получать стабильные урожаи при минимальной зависимости от условий выращивания. Для ее решения приходится постоянно совершенствовать методы селекционной работы, искать новые источники обогащения генофонда. В процессе эволюции рода *Triticum* L. под влиянием внешней среды и спонтанной гибридизации образовалось широкое генетическое разнообразие.

В этом процессе важное место принадлежит мутациям. Но в природе мутации встречаются не так часто, и ученые с целью получения новых исходных форм для селекции широко используют мутационные свойства излучений и некоторых химических веществ. В настоящее время в мире на-

считывается свыше трех тысяч сортов и гибридов различных культур, созданных методом экспериментального мутагенеза. Поэтому в 1986 г, когда произошла наибольшая в истории планеты техногенная катастрофа — авария на Чернобыльской АЭ, — возникло ряд вопросов: произойдут ли под влиянием радиационного облучения генотипические изменения живых организмов на пораженных радиацией территориях и, в случае возникновения мутаций, возможно ли использование их для селекционных целей.

Материалы и методы

Пшеница — удобный объект для исследования, так как в силу короткого периода онтогенеза за сравнительно небольшое время можно проследить действие радиации на наследственность определенных генотипов в течение многих поколений. В 1987 г. под руководством академика Д. М. Гродзинского, профессоров П. К. Шкварникова, В. Ф. Батыгина, доц. О. Д. Коломиец в зоне отчуждения ЧАЭ были собраны растения пшеницы, которые в течение двух вегетационных периодов — в посеве 1986 и в самосеве 1987 гг. — на всех этапах органогенеза находились под действием хронического облучения. Дозы, которые действовали на организмы, определялись комбинацией внешнего гамма — облучения и внутреннего облучения бета- и альфа-частицами, которые проникали с поверхности растений во внутрь и локализовались в основном в ядрах и ДНК [2]. В 1988 г. 239 собранных образцов в виде зерен индивидуально обмолоченных колосьев были переданы нам для дальнейшего изучения на Белоцерковской ОСС. Методом педигри с 1988 и по 2012 г. проводились пересевы измененных форм, а также исследовался характер происходящих изменений. По мере получения константных форм они высевались в питомниках для оценки хозяйственно-ценных признаков, лучшие из них использовались для скрещиваний.

Результаты и обсуждения

Созданная коллекция мутантов насчитывает около 3-х тысяч образцов. Большое разнообразие мутантов в поздних поколениях является результатом их нестабильности. Наиболее многочисленной в M_3 была группа мутантов по своей морфологии и биологии близка к исходному сорту Белоцерковская 47 (БЦ47), который относится к разновидности *erythrospermum*, среднерослый (95–105 см), среднеустойчивым к фитопатогенам и к неблагоприятным зимним условиям, с отличными хлебопекарными качествами, но был недостаточно устойчив к полеганию на высоких агрофонах. Мутанты сорта БЦ47 отличались от исходного сорта булавовидной формой колоса, благодаря чему получили название «БЦ47 скверхед (БЦ47 скв.)». Подавляющее число мутантов и гибридов с ними не представляли для селекции никакой ценности, это были растения, сильно отклоняющиеся по морфологии от нормы. Был представлен широкий спектр мутаций колоса, стебля, листьев. Возникли также системные мутации, которые имеют признаки других гексаплоидных видов, — *T. spelta*, *T. compactum*, *T. Vavilovi* (рис. 1–4).



Рис. 1. Ярко выраженный скверхед



Рис. 2. *T. Comractum*, безостый

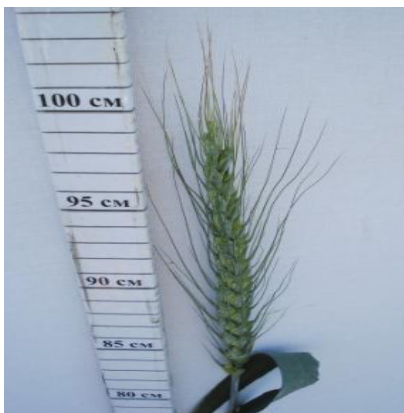


Рис. 3. Спельтоид остистый
длинноколосый



Рис. 4. *T. Comractum*, завязанный
узелом

Подробное описание морфологических особенностей мутантов БЦ47 скв., их расщепления и характера наследуемости нами подано в предыдущей публикации [3]. Среди популяции мутантов БЦ47 скв. путем многократных индивидуальных отборов найдены константные линии с повышенной зимостойкостью и устойчивостью к полеганию, высокопродуктивные, с отличными хлебопекарными качествами. Среди них выделилась линия с комплексом полезных свойств — БЦ скв.774/89. В среднем за 9 лет испытания (1991–1999) зерно этого радиомутанта содержало 33 % клейковины отличного качества с 79 ед. ИДК. Его было введено в скрещивание с сильным по качеству, но недостаточно зимостойким полукарликовым сортом степного экотипа Одесская 162. Среди популяции гибридов от этого скрещивания было отобрано 12 линий (табл. 1). Все линии отличались друг

от друга по основным утилитарным признакам: зимостойкости, скороспелости, высоте растений, устойчивости к болезням, урожайности, количеству и качеству клейковины.

Таблица 1

Результаты сортоиспытания линий от скрещивания Мутант БЦ скверхед. 774/89 х Одесская 162, БЦОСС, 2000 г.

Полевой № 2000 г.	Оценка после зимы, балл	Дата ко-лоше-ния	Поражение бурой ржавчиной, %	Высота, см	Урожайность		Клейковина	
					ц/га	+/- к стандарту	% ИДК	Упругость, балл
1246	3,5	23.05	5	73	41,6	+3,6	30/97	4
1247	2,5	27.05	5	76	40,1	+2,1	31/95	4
1248	2,7	27.05	13	79	40,7	+2,7	32/96	4
1249	3,2	23.05	5	73	45,5	+7,5	31/86	5
1256	3,2	23.05	5	68	46,3	+6,8	29/89	5
1258	3,7	23.05	5	78	50,4	+10,9	28/86	5
1259	3,7	23.05	6	82	45,0	+5,5	28/84	5
1265	4,0	23.05	6	85	47,7	+5,1	29/85	5
1266	4,0	23.05	5	83	46,6	+4,0	27/72	5
1273	3,2	23.05	5	81	44,3	+5,9	26/78	5
1274	3,5	23.05	4	83	42,7	+4,3	28/89	4
1275	3,5	23.05	6	83	44,5	+6,1	28/82	5

Наследуемость хлебопекарных качеств гибридами этой комбинации скрещивания проходило по промежуточному типу. За исключением трёх номеров (1246, 1247, 1248), все линии по качеству отвечали ценным и сильным пшеницам. После изучения в предварительном и конкурсном сортоиспытании на селекционной станции лучшие из них были переданы в госиспытание, а затем занесены в Реестр сортов растений Украины как сорта Царивна (племенной № 1275), Лисова писня (№ 1256), Романтика (№ 1273). Все они среднеранние, имеют повышенную зимостойкость, отнесены к сильным пшеницам, рекомендованы для выращивания в зонах Лесостепи и Полесья.

Сорт ЦАРИВНА. Колос остистый, пирамидальной формы, средней длины и плотности. Имеется сильный восковой налёт на влагалище флагового листа, на колосе и верхнем междоузлии. Устойчивость к полеганию — 8,8 балла. Резистентный к бурой ржавчине, мучнистой росе, обыкновенной корневой гнили и септориозу.

Сорт высокопродуктивный, потенциальная урожайность высокая: в Винницком ГЦЭСР получен урожай 75,9 ц/га, что выше стандартного сорта Подолянка на 6,9 ц/га; на Маньковской ГСИС Черкасской обл., соответственно, — 72,9 (+10,8) ц/га; в Тернопольском ГЦЭСР — 52,4 (+11,4 ц/га); на Кировоградской ГСИС — 83,1 (+9,3 ц/га); на Миргородской ГСИС — 73,5 (+5,7 ц/га). В ПСП «Сокильча» Житомирской обл. получен урожай 103 ц/га. По данными лаборатории Госкомиссии, сорт Царивна отнесен к сильным пшеницам: содержание белка в зерне — 14,2%, клейковины — 31,0%; сила муки — 375 е. а.

Лисова писня. Колос длинный, восковой налёт на листьях и колосе почти отсутствует. Относится к короткостебельным сортам (83–88 см.), имеет повышенную устойчивость к полеганию и к засухе, резистентный к болезням листьев и к фузариозу колоса. Высокопродуктивный. Потенциальная урожайность высокая: в очень засушливом 2007 г. на Вовчанской ГСИС получен урожай 78,3 ц/га; в 2008 г. на Белоцерковской ГСИС — 89,7 ц/га.; в ПСП «Сокильча» Житомирской обл. — 88 ц/га. За данными Госкомиссии, сорт отнесен к сильным пшеницам: в зерне белка содержится 14,0%; клейковины — 29%, сила муки — 331 е. а., объем хлеба — 1190 мл.

Романтика. Колос пирамидальный, ости на верхней его части очень длинные, восковой налёт на колосе и флаговом листе едва заметный.

Сорт среднерослый — (89–104 см), устойчивость к полеганию — 9 баллов, имеет повышенную засухоустойчивость — 8,5 балла и зимостойкость — 8,6 балла.; резистентный к мучнистой росе, бурой ржавчине и септориозу, масса 1000 зерен — 45–50 г.

Высокопродуктивный, в среднем за 3 года в госиспытании в 26 точках Лесостепи урожайность была равна 68,5 ц/га, в том числе в Винницком ГЦЭСР — 76,4 (+11,7 ц/га к стандарту), на Белоцерковской ГСИС — 75,6 (+10,9 ц/га); на Миргородской ГСИС — 76,1 (+11,4 ц/га), Вовчанской ГСИС — 74,7 (+10,0 ц/га), на Маньковской ГСИС — 77,7 (+13,0 ц/га). За данными Госкомиссии, сорт отнесен к сильным пшеницам: в зерне белка содержится 14,0–15,0%; клейковины — 29–32%, объем хлеба с 100 г муки — 1100 мл.

Выводы

В результате техногенной катастрофы — аварии на ЧАЭС — в непосредственной близости от реактора произошло хроническое облучение растений озимой пшеницы мягкой. Наряду с большим количеством депрессивных малоурожайных радиомутантов появились так называемые малые мутации, лучшие из которых используются в селекционном процессе как генетические источники зимостойкости, засухоустойчивости, продуктивности и высоких хлебопекарных качеств. Отобрана мутантная линия БЦ47 скверхед, которая послужила материнским компонентом при создании сортов пшеницы озимой Царивна, Лисова писня, Романтика, занесенных в Реестр сортов растений Украины в 2008–2010 гг.

Литература

1. *Ранопорт И. А.* Гены, эволюция, селекция. — Избр. труды. — М.: Наука, 1996. — 249 с.
2. *Викторова Н. В., Гродзинский Д. М.* Физико-химическое состояние топливных частиц и поступление радионуклидов в растения // Радиационные аспекты Чернобыльской аварии. Ч. 2. — К., 1989. — С. 54–60.
3. *Бурденюк-Тарасевич Л. А.* Віддалені наслідки дії хронічного опромінення рослин *T. aestivum* L. в зоні відчуження ЧАЕС в 1986–1987 рр. // Фактори експериментальної еволюції організмів. Зб. наукових праць / НАНУ, НААНУ, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова. — К.: Логос, 2011. — Т. 10. — С. 90–95.

Резюме

С целью обогащения генетического материала для селекции озимой пшеницы *T. aestivum* L. изучалась коллекция радиомутантов, образованных в зоне отчуждения ЧАЭС. Отобрана мутантная линия БЦ47 скв., которая послужила материнским компонентом при создании высокопродуктивных, с повышенной зимостойкостью, сильных за качеством сортов Царивна, Лисова писня, Романтика, занесенных в Реестр сортов растений Украины в 2008–2010 гг

З метою збагачення генетичного матеріалу для селекції озимої пшениці *T. aestivum* L. вивчалась колекція радіомутантів, які утворилися в зоні відчуження ЧАЕС. Відібрана мутантна лінія БЦ47 скв., що послужила материнським компонентом при створенні високопродуктивних, високозимостійких, сильних за якістю сортів Царівна, Лісова пісня, Романтика, які занесені до Реєстру сортів рослин України в 2008–2010 рр.

Collection of radio mutants gathered in the exclusion zone of the Chernobyl Nuclear Power Station in 1986–87 was utilized to enrich the genetic material used for selection of winter wheat *T. aestivum* L. A line of mutants BTs 47 square head became a parental component for the following varieties: Tsarivna, Lisova Pisia, Romantica. They are winter resistant and have high quality grain. These varieties were included in the National Variety Register in 2008–2010.

ВЕРЖУК В. Г., ПАВЛОВ А. В., ТИХОНОВА О. А., НОВИКОВА Л. Ю.

*Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства
им. Н. И. Вавилова, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42–44,
e-mail: vverzhuk@mail.ru*

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ГЕНОПЛАЗМЫ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ (*RIBES NIGRUM* L.) ОБРАБОТАННОЙ КРИОПРОТЕКТОРАМИ И БЕЗ НИХ ПОСЛЕ ХРАНЕНИЯ В ПАРАХ ЖИДКОГО АЗОТА

Учитывая биологическую особенность плодовых растений, что большинство из них гетерозиготные и при семенном размножении теряют признаки материнского растения, то для сохранения сортов, ценных при генетических исследованиях, генофонд плодовых и ягодных культур необходимо хранить в живом виде. Классический метод хранения генофонда, а именно, поддержание дуплетных коллекционных насаждений, надежный, но эконо-

мически дорогой, если учитывать стоимость материала и количество работ по уходу за взрослыми растениями. Кроме того, нет гарантии в сохранности уникальных генотипов от воздействия неблагоприятных экологических, климатических, техногенных и антропогенных факторов (Грищенко и др., 2004). Решение проблемы состоит в организации длительного хранения исчезающих видов и образцов и в настоящее время существует перспективный и сравнительно дешевый способ сохранения геноплазмы растений — криоконсервация ее в жидком азоте при -196° или его парах (Бутенко, 1964, Вержук и др., 2010). При консервации используют такие части растений как однолетние побеги, почки, меристемы, пыльцу и семена диких видов (Forsline et al., 1998). Кроме криосохранения геноплазмы в виде черенков и пыльцы были проведены исследования по хранению почек смородины, отделенных от древесины и обработанных перед замораживанием криопротекторами различной концентрации. Применяя криопротекторы с более щадящей силой воздействия на растительную клетку и ее содержимое, мы преследовали цель получения живых растений из замороженных почек в условиях *in vitro*. Из других исследований известно, что криозащитные вещества не только уменьшают размеры кристаллов льда в растительных тканях, а также их количество, но и снижают токсические и другие вредные эффекты обезвоживания (Попов, 2008). При этом следует отметить, что по каждой культуре необходим индивидуальный подбор режимов замораживания-размораживания и соответствующих условий для проведения вывода сохраняемой геноплазмы из состояния глубокого покоя (Вержук, Павлов и др., 2011).

Материалы и методы

Для криоконсервации вегетативных побегов черной смородины (*Ribes nigrum* L.) были взяты образцы из генетической коллекции смородины Павловской опытной станции ВИР (г. Павловск). Черенки, заготовленные в ноябре месяце, когда растения находились в состоянии глубокого покоя, нарежали на небольшие сегменты длиной 6–8 см (2–3 почки на черенке) и подсушивали перед закладкой на хранение три-четыре недели при -4 – -5°C в холодильном шкафу «INCUBATOR- 818» до влажности 28–35%. После подсушки черенки замораживали методом программного замораживания вначале до -30°C , с начальной скоростью $0,5^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, затем до -90°C , увеличив скорость до $1^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ и погружали в криотанки на длительное хранение в парах жидкого азота при -183 – -185° (Вержук и др., 2007). Сбор пыльцы смородины и ее подсушивание проводили согласно методическим указаниям (Нестеров, 1986). Часть пыльцы использовали на определение исходной жизнеспособности, а остальную помещали в пробирки и закладывали на хранение в азоте. Замораживание пыльцы до сверхнизких температур осуществляли путем прямого погружения пробирок с пыльцой в жидкий азот, а размораживали в водяной бане при $+37^{\circ}\text{C}$. Фертильность

пыльцы, хранившейся в течение года в условиях сверхнизких температур, изучали по традиционной методике (Мичуринск, 1980). С этой целью были проведены 24 комбинации скрещивания. Контролем служила завязываемость ягод при опылении свежесобранной пыльцой. В работе с протекторами мы применяли такие проникающие в клетки почек смородины криопротекторы, как 25 %, 40 %, 55 %, 65 %-ый глицерин и 25 %, 40 %, 55 %, 65 %-ную сахарозу. Почки в криопробирках заливали и выдерживали в криопротекторах 1 час при 20 °С, затем замораживали в замораживателе фирмы «Sanyo Medikal Freezer» до 48–50 °С и помещали на хранение в пары азота при –185–186°. После хранения 1–1,5 месяца почки размораживали в проточной воде, отмывали от криопротекторов и определяли их жизнеспособность проращиванием на питательной среде (MS) с добавлением БАП, 1 мг/л.

Результаты и обсуждение

Исследования фертильности пыльцы, проведенные в 2007 г. показали высокую результативность длительного хранения ее в условиях сверхнизких температур паров азота (–185–186°). Завязываемость ягод при опылении данной пыльцой во всех проведенных комбинациях скрещивания была высокой и составила 94,3–100 %. Результаты, полученные при опылении пыльцой после низкотемпературного хранения и свежесобранной были сравнимы, а в ряде случаев даже превышали контрольные варианты опыления.

Погодные условия 2008 г. были неблагоприятными: теплая, солнечная погода, установившаяся в конце апреля спровоцировала раннее начало цветения растений, а в первой декаде мая, во время опыления кастрированных цветков, температура воздуха понизилась до –0,2–1 °С. Завязываемость ягод в сложившихся условиях была значительно ниже по сравнению с опылением в благоприятный 2007 год. Она составила 21,2–45,5 % при опылении пыльцой после хранения в азоте и 15,2–50,8 % — свежесобранной пыльцой (контроль). Из проведенных 24 комбинаций скрещивания лишь в 4-х — Багира х Кастичай; Багира х Пилот А. Мамкин; Бинар х Кастичай; Бинар х Пилот А. Мамкин процент завязавшихся ягод при опылении пыльцой после хранения в азоте был в 2 раза ниже по сравнению с контролем. В варианте Багира х Кантата наблюдались практически одинаковые результаты при опылении пыльцой после хранения в азоте и свежесобранной. Наиболее результативными оказались комбинации скрещивания: Багира х Бурая Сладкая; Багира х Triton; Бинар х Кантата; Бинар х Triton, в которых завязываемость ягод при опылении пыльцой после хранения в жидком азоте составляла 44,4 %, 45,5 %, 40,6 %, 40,5 % соответственно (или 125,4 %, 133 %, 172 % и 182,4 % к контролю соответственно). По полученным результатам можно заключить, что даже в неблагоприятных условиях опыления пыль-

ца черной смородины сохраняет высокую оплодотворяющую способность после хранения ее при сверхнизкой температуре $-185-186^{\circ}$.

В таблице 1 дана оценка коллекционных сортов черной смородины по количеству высаженных черенков в почву после хранения в азоте, количеству прижившихся черенков и полученных из них растений за лето и процент жизнеспособности изучаемых сортов.

Таблица 1

Жизнеспособность черенков смородины после хранения в жидком азоте и высадки в поле. г. Павловск, 2011 г.

Сорт / № каталога	Количество высаженных в поле черенков, шт.	Количество прижившихся черенков, шт	Жизнеспособность, %
Колхозная / к-7603	25,0	18,0	72,0 $\pm$ 13,3
<i>Ribes nigrum</i> subsp. <i>sibiricum</i> / к-7727	25,0	20,0	80,0 $\pm$ 13,7
Буряя сладкая / к-35777	25,0	16,0	64,0 $\pm$ 11,4
Кантата-50 / к-23783	25,0	14,0	56,0 $\pm$ 12,8
<i>Ribes nigrum</i> subsp. <i>europaeum</i> / к-31440	25,0	17,0	68,0 $\pm$ 11,2

Анализ данных табл. 1 показал, что в зависимости от сорта процент жизнеспособности черенков, высаженных в поле составил от 56,0 $\pm$ 12,8% до максимума 80,0 $\pm$ 13,7%. Большинство изучаемых сортов проявили хорошую выживаемость после хранения в парах жидкого азота. За летнюю вегетацию выжившие черенки образовали из почек молодые побеги и корневую систему, что позволило им перенести зимние морозы. Из 5 исследуемых образцов наибольшей устойчивостью при хранении отличался сорт *Ribes nigrum* subsp. *sibiricum* (к-7727). Анализ результатов по проращиванию в стерильных условиях почек смородины сортов Велой и Лентяй, обработанных перед замораживанием криопротекторами, показал, что процент выживших почек у сорта Велой составил от 80% у варианта 25%-ной сахарозы до 0% у вариантов с 65% сахарозой и глицерином, а вариант с 55% сахарозой показал 60% жизнеспособных почек. Контроль-почки не обработанные криопротекторами — также показал 0% выживших почек. Процент жизнеспособных почек сорта Лентяй у всех вариантов примененных криопротекторов менее 5% (при 0% у контроля, не обработанного протекторами). В этом случае необходимо подбирать время и условия инкубации почек в растворах криопротекторов, так как проявились сортовые особенности растительного материала.

Выводы

По полученным результатам следует отметить, что пыльца черной смородины сохраняет высокую фертильность после хранения в парах жидкого азота. Жизнеспособность сохраняемых черенков имела различные значения в зависимости от сорта. Высаженные в почву черенки прижились

и сформировали нормальные растения, аналогично контрольным. Проведение обработки почек смородины различными по составу криопротекторами позволяет получить живые почки с хорошим процентом жизнеспособных почек после размораживания и прорастивания на свету, но при этом следует учитывать сортовые особенности материала.

Литература

1. Грищенко В. И. и др. Проблемы криобиологии и сохранения генетических ресурсов // Материалы международной конференции «Сохранение генетических ресурсов». — СПб, 19–22 октября, 2004, Цитология. — Т. 46. — № 9. — С. 784–785.
2. Бутенко Р. Г. Культура изолированных тканей и физиология растений. — М., 1964. — 18 с.
3. Вержук В. Г., Тихонова Н. Г., Савельев Н. И., Дорохов Д. С. Методы криохранения геноплазмы растений плодовых и ягодных культур. Международная научно-практическая конференция «Развитие научного наследия И. В. Мичурина по генетике и селекции плодовых культур». — Мичуринск — Научоград. — 2010. — С. 80–83.
4. Forsline et al. Recovery and longevity of cryopreserved dormant apple buds // J. Amer. Soc. Hort. Sci. — 1998. — Vol. 123, № 3. — P. 365–370.
5. Попов А. С. Криоконсервация культивируемых клеток. Методы культивирования клеток. — Санкт-Петербург, 2008. — С. 236–248.
6. Вержук В. Г., Павлов А. В. и др. Криоконсервация побегов и почек черемухи (*Padus* Mill.) с применением различных криопротекторов и режимов замораживания. — К., 2011. — С. 233–237.
7. Вержук В. Г., Тихонова О. А., Тихонова Н. Г. Фертильность пыльцы черной смородины (*Ribes nigrum* L.) при и сверхнизких режимах хранения. — М., 2007. — С. 66–68.
8. Нестеров Я. С. Изучение коллекции семечковых культур и выявление сортов интенсивного типа. Методические указания. — Л., 1986. — С. 69–75.
9. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур. — Мичуринск, 1980. — С. 209–239.

Резюме

Проведена криоконсервация вегетативных побегов, пыльцы и почек смородины черной, обработанных и не обработанных перед замораживанием криопротекторами. Жизнеспособность черенков смородины, высаженных в поле составила 56–80 %. Фертильность пыльцы после хранения в жидком азоте была выше чем у свежесобранной. Обработка почек смородины криопротекторами позволяет получить жизнеспособный материал после размораживания и прорастивания на свету.

Carried out cryopreservation of vegetative shoots, pollen and black currant buds, treated and not treated with cryoprotectants before freezing. The viability of black currant cuttings, planted in the field was 56–80 %. Pollen fertility after storage in liquid nitrogen was higher than that of fresh-ly. Treatment black currant buds by cryoprotectants permit get a viable material after defreezing and germination in the light.

ВЛИЯНИЕ ТРИНЕКСАПАК-ЭТИЛА НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СВОБОДНОГО ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО КАЛЬЦИЯ В ИНТАКТНЫХ КОРНЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Предупреждение полегания является одним из важных элементов современных технологий выращивания пшеницы [1]. Для этой цели применяют ретарданты — вещества, которые подавляют рост стебля в высоту, вызывая его утолщение, усиливают рост корневой системы, а также повышают продуктивность растений и их устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Тринексапак-этил [(4-циклопропил- α -гидроксиметил)-3,5-диоксикиклогексанметил эстер карбоновой кислоты] (ТЭ) — синтетический регулятор роста и развития растений, который ингибирует превращение гибберелловой кислоты ГК₂₀ до ГК₁, в результате чего снижается активность деления и растяжения клеток. ТЭ поступает через поверхность листьев в растение, где в клетках гидролизруется до кислоты, которая легко перемещается к меристеме растений и взаимодействуя с ГК₂₀-оксидазой блокирует биосинтез гибберелловой кислоты (ГК₃). При этом, уменьшается длина междоузлий, увеличивается диаметр стебля и количество зерен в колосе [2].

Ионы Ca²⁺ рассматриваются как универсальный регулятор многих реакций в клетке, обладают уникальными свойствами и способностью в проведении различных сигналов, оказывающих первичное воздействие на клетку — гормонов, патогенов, света, гравитационных и стрессовых воздействий [3]. Изучение изменений концентрации свободного цитоплазматического кальция, которое может являться реакцией на проявление первичной физиологической активности ТЭ на растениях пшеницы, способствует дальнейшему пониманию механизмов реализации ретардантной активности.

Поэтому, целью работ было изучить изменения (Ca²⁺)_{цит} на действие ТЭ в интактных корнях озимой пшеницы высокоинтенсивного сорта Смуглянка с помощью флуоресцентного зонда Fluo-3 AM.

Материалы и методы

Материалом для исследований служили 3-х суточные проростки озимой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Смуглянка. Семена пшеницы, стерилизованные в течение 30 мин бактерицидной лампой ОБН 35 М, проращивали в чашках Петри на смоченной дистиллированной водой фильтровальной бумаге в течение 42 ч в темноте при 20 °С. Проростки с длиной главного корня 3–5 мм обрабатывали ТЭ (10⁻⁶ М) на протяжении 3 мин. Контролем служили корни проростков, обработанные дистиллированной водой. После обработки проростки семена вновь помещали в чашки Пет-

ри на 1 сутки. На 3 сутки, интактные корни длиной 15–20 мм выдерживали в растворе для инкубации в течение 2 ч в темноте при 4 °С. Используемый нами раствор содержал 20 мкМ Fluo-3 AM, 0,2 мМ CaCl₂ и 50 мМ сорбита. Fluo-3 AM добавляли с исходного раствора 1 мМ Fluo-3 AM в ДМСО [4]. После инкубации корни промывали буфером в течение 15 мин. Буферный раствор содержал 0,13675 моль NaCl, 0,00268 моль KCl, 0,01014 моль Na₂HPO₄, 0,00176 моль KH₂PO₄, pH 7,4. Инкубирование и промывку проводили в эпендорфах объемом 2 мл.

Измерения флуоресценции клеток корней окрашенных Fluo-3 AM осуществляли при помощи конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 5 Pascal (Carl Zeiss, Германия) с длиной волны возбуждения 488 нм, эмиссии — 512 нм.

Анализ изображений проводили с помощью программы ImageJ. Все полученные результаты обработаны статистически в Excel. Опыты проводили в 5 биологических повторностях, каждый вариант имел не менее четырех аналитических повторностей.

Результаты и обсуждения

В каждой из известных систем сигнальной трансдукции важное значение, как вторичный посредник, имеют ионы Ca²⁺ [3]. Роль изменений свободного цитоплазматического кальция при действии на клетку ТЭ еще не изучена.

Обработка проростков ТЭ 10⁻⁶ М вызывала снижение уровня свободного Ca²⁺ в апексе корня озимой пшеницы сорта Смуглянка в сравнении с контрольным вариантом.

По литературным данным известно о повышении концентрации (Ca²⁺)_{цит} в ответ на раздражитель [4, 5] и скором возвращении на базовый уровень [6]. Снижение (Ca²⁺)_{цит} наблюдалось через 24 ч после обработки растений, что совпадает с наибольшим накоплением главного метаболита ТЭ — тринексапак-кислоты.

Известно, что при ингибировании синтеза гиббереллинов возможно падение уровня кальция. Гибберелловая кислота, связываясь с плазмалемными рецепторами массой около 18 и 68 кДа, активирует G-белки и Ca²⁺/CaM — систему [7, 8], что приводит к повышению концентрации исследуемого иона.

При обработке клеток ауксинами также наблюдается увеличение концентрации кальция в несколько раз [9]. При этом действует обратная связь между ауксинами и гиббереллинами.

Следует отметить, что инактивация в клетке некоторых метаболических путей, в нашем случае кальциевой сигнальной системы, влечет за собой определённые нарушения гомеостаза. В нашем эксперименте это наблюдается в довольно большом падении уровня концентрации свободного цитозольного кальция, приблизительно на 52 %, что может быть связано либо с прекращением влияния ГК на клетку, либо с инактивацией каналов, ответственных

за выброс кальция из клеточных депо. Известно, что при взаимодействии ГК с плазмалемным рецептором наблюдается открытие неселективных ионных каналов, через которые внеклеточный и депонированный кальций поступает в цитозоль, где связывается с кальмодулином, активируя ряд протеинкиназ, влияя, таким образом, на транскрипцию и синтез белка. Это прослеживается в алейроновом слое при прорастании семян злаков [10]. Противостоят этим каналам Ca^{2+} -помпы, Ca^{2+} -АТФазы [11, 12, 13] и $\text{Ca}^{2+}/\text{H}^{+}$ -антипорты [14], которые уменьшают количество кальция в цитозоле клетки, закачивая его в вакуоли, ЕПР, митохондрии, таким образом обеспечивая защиту от апоптоза. Транспорт осуществляется против градиента концентрации и, следовательно, с затратой энергии, нуждаясь в АТФ. Активность этих каналов удерживается на постоянном уровне, и изменить её можно с помощью специфических ингибиторов. На противовес им, каналы вытока обеспечивают поступление кальция в цитозоль из межклеточного пространства и депо [15]. Они бывают двух типов: потенциал независимые [16, 17], которые все время находятся в открытом состоянии и обеспечивают непрерывный ток кальция по градиенту концентрации, и потенциал зависимые — активируются низкомолекулярными органическими веществами или сменой заряда цитозоля. Сигнальный путь гибберелловой кислоты включает активацию этих каналов и влечет за собой повышение уровня цитозольного кальция. Выключая ГК с этой цепочки, мы сможем наблюдать падение концентрации $(\text{Ca}^{2+})_{\text{цит}}$.

Второй механизм, который может обеспечить уменьшение цитозольного кальция — это прямая инактивация каналов активными продуктами метаболизма ТЭ. Не так много известно о блокаторах кальциевых каналов в растительных клетках. В основном исследовались неорганические ингибиторы — металлы: La^{3+} , Gd^{3+} , Al^{3+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} [18]. Органические вещества использовали редко и с целью обнаружить каналы подобные животным клеткам, из-за этого специфических ингибиторов каналов растений очень мало и они недостаточно исследованы. Поэтому, можно предположить, что ТЭ может выступать как специфический (не специфический) ингибитор кальциевых каналов.

Для подтверждения этих гипотез необходимы исследования динамики изменений концентрации цитоплазматического кальция с использованием ингибиторов каналов, которые будут проводиться в дальнейшем.

Выводы

Результаты исследований выявили влияние тринексапак-этила на меристематические клетки корней и снижение активности концентрации кальция в клетках. Это влечет за собой возможное снижение уровня метаболизма клетки и её чувствительности к внешним воздействиям, что способствует возможному снижению митотического индекса ткани и повышению устойчивости к неблагоприятным условиям, что мы и наблюдаем

на внешних, визуально определяемых, морфологических характеристиках растения в целом.

Авторы выражают благодарность член-корреспонденту НАН Украины, доктору биологических наук, профессору Е. Л. Кордюм за любезно предоставленную возможность использования конфокального лазерного микроскопа для проведения анализов и ценные консультации.

Литература:

1. Моргун В. В., Швартай В. В., Кірізій Д. А. Фізіологічні основи формування високої продуктивності зернових злаків // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. — К.: Логос. — 2009. — Т. 1. — С. 11–42.
2. Rademacher W. Growth retardants: Effect of gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways // Annu. Rev. Plant Physiol. — Plant Mol. Biol. — 2000. — Vol. 51. — P. 501–531.
3. Медведев. С. С. Кальциевая сигнальная система растений // Физиология растений. — 2005. — Т. 52, № 2. — С. 282–305.
4. Zhang W. H., Rengel Z., Kuo J. Determination of intracellular Ca^{2+} in cells of intact wheat roots: loading of acetoxymethyl ester of Fluo-3 under low temperature // Plant J. — 1998. — Vol. 15. — P. 147–151.
5. Fagerness M. J., Penner D. ^{14}C -trinexapac-ethyl absorption and translocation in Kentucky bluegrass // Crop Science. — 1998. — Vol. 38. — P. 1023–1027.
6. Braam J., Davis, R. W. Rain-induced, wind-induced, and touch-induced expression of calmodulin and calmodulin-related genes in *Arabidopsis* // Cell. — 1990. — Vol. 3. — P. 357–364.
7. Gehring C. A., Williams D. A., Cody S. H., Parish R. W. Phototropism and geotropism in maize coleoptiles are spatially correlated with increases in cytosolic free calcium // Nature. — 1990. — Vol. 345. — P. 528–530.
8. Trewavas A. Le calcium, c'est la vie: calcium makes waves // Plant Physiol. — 1999. — Vol. 120. — P. 1–6.
9. Lovegrove A., Barratt D. H., Beale M. H., Hooley R. Gibberellin-photoaffinity labeling of two polypeptides in plant plasma membranes // Plant J. — 1998. — Vol. 15. — P. 311–320.
10. Gilroy S., Jones R. L. Gibberellic acid and abscisic acid co-ordinately regulate cytoplasmic calcium and secretory activity in barley aleurone protoplast // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1992. — Vol. 89. — P. 3591–3595.
11. Gehring C. A., Irving H. R., Parish R. W. Effects of auxin and abscisic acid on cytosolic calcium and pH in plant cells // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1990. — Vol. 87. — P. 9645–9649.
12. Gilroy S. Calcium-dependent and -independent signal transduction in the barley aleurone // Plant Cell. — 1996. — Vol. 8. — P. 2193–2209.
13. Evans D. E., Brairs S. A., Williams L. E. Active calcium transport by plant cell membranes // J. Exp. Bot. — 1991. — Vol. 42. — P. 285–303.
14. Felle H., Tretyn A., Wagner G. The role of the plasma-membrane Ca^{2+} -ATPase in Ca^{2+} homeostasis in *Sinapis alba* root hairs // Planta. — 1992. — Vol. 188. — P. 306–313.
15. Schumaker K. S., Sze H. Solubilization and reconstitution of the oat root vacuolar $\text{H}^{+}/\text{Ca}^{2+}$ exchanger // Plant Physiol. — 1990. — Vol. 92. — P. 340–345.

16. Sanders D., Pelloux J., Brownlee C., Harper J.F. Calcium at the crossroads of signaling // Plant Cell. — 2002. — Vol. 14. — P. 401–417.

17. White J.P., Broadley M.R. Calcium in Plants // Ann. Bot. — 2003. — Vol. 92. — P. 487–511.

18. White P.J. Calcium channels in higher plants // Biochim. Biophys. Acta. — 2000. — Vol. 1465. — P. 171–189.

Резюме

Проведені дослідження по визначенню впливу тринексапак-етилу на внутрішньоклітинний розподіл та кількість вільного кальцію в меристематичних клітинах коренів показали, що основна маса Ca^{2+} локалізується у внутрішньоклітинних депо, зменшуючи його вміст в цитоплазмі на 52 %.

Проведённые исследования по определению влияния тринексапак-этила на внутриклеточное распределение и количество свободного кальция в меристематических клетках корней показали, что основная масса Ca^{2+} локализуется во внутриклеточных депо, уменьшая его содержание в цитоплазме на 52 %.

Studies to determine the impact trynexapac-ethyl on intracellular distribution and amount of free calcium in merystematic cells of roots showed that the bulk of Ca^{2+} is localized in intracellular stores, reducing its content in the cytoplasm on 52 %.

ВОЛКОВА Н. Е.

Південний біотехнологічний центр в рослинництві НААН України,
Україна, 65036, Одеса, вул. Овідіопольська дорога, 3,
e-mail: natavolk@rambler.ru

ДНК-ШТРИХКОДУВАННЯ ВИДІВ ТВАРИН І РОСЛИН (ОГЛЯД)

Генетичні ресурси культурних рослин та їх диких родичів є одним з найважливіших компонентів біорізноманіття, так як мають фактичну або потенційну цінність для виробництва продуктів харчування, сталого розвитку екологічно безпечного сільського господарства, створення сировини для різних галузей промисловості [1]. У витоків національної та світової стратегії збереження і раціонального використання генетичних ресурсів культурних рослин та їх диких родичів стояв видатний вчений ХХ століття М. І. Вавилов, 125-ліття з дня народження якого відмічає в цьому році наукова спільнота. Проблеми збирання, збереження, вивчення та раціонального використання генетичних ресурсів є державними, стратегічно важливими для кожної країни, в тому числі й для України, та безпосередньо пов'язані із забезпеченням як національної, так і глобальної продовольчої, екологічної та біоресурсної безпеки.

Оцінка генетичного різноманіття рослин, характеристика існуючого генофонду, визначення ступеня спорідненості сортів вимагає розробки надійних й ефективних методів диференціації та ідентифікації. Відносно новим підходом видової ідентифікації є технологія так званого «ДНК-штрихкування» (*DNA barcoding*). Основна ідея ДНК-штрихкування полягає

в тому, що деякий відносно короткий стандартний регіон ДНК може слугувати унікальним маркером, що дозволяє однозначно (майже однозначно, т. я. є внутрішньовидова мінливість) визначити видову належність об'єкта.

Вперше ДНК-штрихкування як універсальний підхід для видової ідентифікації запропонував використовувати канадський вчений П. Хеберт, а саме для ідентифікації особин тварин важко визначуваних, пошкоджених та тих, що знаходяться на личинковій стадії розвитку [2, 3]. У 2003 р. пройшли перші лабораторні тренінги «ДНК і таксономія» і «Таксономія, ДНК і штрихкод життя», які спонсорував фонд «Alfred P. Sloan Foundation». У результаті показано, що запропонована технологія недорога, зручна і дозволяє навіть неспеціалістам проводити точну ідентифікацію організмів, що підсилює значимість таксономічних досліджень за межами академічних установ, наприклад, в агрономії, охороні здоров'я, освіті та багатьох інших сферах суспільства [4].

У 2004 р. за підтримки вищезгаданого фонду створено **Консорціум «Штрихкод Життя»** (Consortium for the Barcode of Life, CBOL), який об'єднує більш 130 організацій з 52 країн: природничі музеї, зоопарки та гербарії, дослідницькі організації, урядові агентства, фонди та біотехнологічні компанії [5]. CBOL здійснює діяльність на кошти фондів за грантами [5]. Мета консорціуму — збереження біорізноманіття на Землі. Але перш ніж його зберігати, треба точно знати, чим ми володіємо, тобто описати його. Тому CBOL створює єдину методичну та інформаційну систему, яка дозволить описати всі існуючі на Землі види тварин і рослин та допомогти в ідентифікації нових щойно відкритих видів.

Консорціумом ініційовано створення **міжнародного проекту «Штрихкування життя»** (International Barcode of Life Project, iBOL). Ця ініціатива озвучена та отримала підтримку на Другій міжнародній конференції «Штрихкування життя» (Тайпей, Тайвань, 17–21.09.2007 р.) [6]. Задачами проекту, крім безпосереднього штрихкування, є створення бібліотеки референтних ДНК-штрихкодів, розвиток аналітичних методик, технологій і біоінформаційних платформ. Залучення країн в проєкт неоднакове та залежить від наявних ресурсів та пріоритетів у дослідженні, в зв'язку з чим запропоновано структурну модель з трьома рівнями участі, пов'язаними з фінансовими зобов'язаннями. Чотири центральні вузли — Канада, Китай, США, Євросоюз (Великобританія, Франція, Фінляндія, Німеччина, Голландія, Португалія, Іспанія) несуть основну відповідальність за фінансування та координацію iBOL і за підтримку своїх основних аналітичних центрів та архівних даних. 10 регіональних вузлів (Австралія, Аргентина, Бразилія, Індія, Корея, Мексика, Нова Зеландія, Норвегія, Росія і Південна Африка) курирують регіональні зусилля щодо штрихкування, крім того Нова Зеландія та Норвегія очолюють програми в Антарктиці та Арктиці, відповідно. Шість національних вузлів (Аргентина, Колумбія, Коста-Ріка, Кенія, Мадагаскар, Панама) посилять національні дослідження біорізноманіт-

тя шляхом штрихкодуювання. На першому етапі діяльності (2010–2015 рр.) учасники iBOL проводять штрихкодуювання п'яти мільйонів зразків, що представляють 500 000 видів. Проект «Штрихкод життя» активно поширюється по всьому світу. Росія є учасником проекту і проводить ДНК-штрихкодуювання зникаючих, рідкісних, особливо охоронюваних й ендемічних видів рослин і тварин.

Суть ДНК-штрихкодуювання. Підхід ДНК-штрихкодуювання — молекулярної ідентифікації видів — припускає, що можливо добрати ділянку генома з тих, що є у всіх організмів (або, найменш, у дуже великої таксономічної групи), нуклеотидна послідовність якої буде однаковою у представників одного виду, але настільки різнитися у різних видів, що ця ділянка буде служити молекулярним ідентифікатором вида. Цю ділянку назвали ДНК-штрихкодом (*barcode*). Визначив послідовність цієї ділянки у ідентифікуемого організму та звернувшись до спеціальної електронної бази даних (бібліотек ДНК-штрихкодів), в якій містяться відомості про послідовності цієї ділянки у всіх видів, будь-який користувач зможе дізнатися, до якого виду належить об'єкт. Якщо відмінність послідовності з відомими штрихкодами менш 3 %, то об'єкт відносять до виду, якому належить штрихкод з бази даних. Якщо послідовність не збігається ні з якою з тих, що є в базі, це може свідчити про виявлення нового, раніш не відомого виду [7, 8]. Організм можливо ідентифікувати на будь-якій стадії його розвитку за наявності крихітного фрагменту будь-якої його тканини, в тому числі законсервованої багато років тому. Завдяки цифровому формату, бібліотеки ДНК-штрихкодів дадуть можливість повністю автоматичної ідентифікації для більшості зразків. Автоматизація принципово поліпшить здатність людства спостерігати, розуміти і керувати біорізноманіттям з істотними науковими, судово-медичними, епідеміологічними та економічними вигодами.

Критерії добору ДНК-штрихкоду. Існує ряд критеріїв щодо послідовності, яка може слугувати ДНК-штрихкодом. Вона повинна бути присутньою у всіх видів великих таксономічних груп (в ідеалі — у всіх еукаріот); вона повинна бути короткою — 700–800 нуклеотидів, щоб її можливо було виділити з деградованого матеріалу та для полегшення (здешевлення) ампліфікації та секвенування (за один цикл); послідовність цієї ділянки повинна бути достатньо дивергентною у різних, навіть близьких видів, щоб види можливо було легко розрізняти, та подібною у всіх особин одного виду; на флангах повинні бути еволюційно консервативні регіони, щоб для ампліфікації використовувати універсальні або, принаймні, специфічні для великих таксонів праймери; вона повинна містити мало інделів для полегшення вирівнювання [9].

ДНК-штрихкодуювання тварин. Для більшості груп тварин вже добрана ділянку, яка відповідає вищенаведеним критеріям, а саме 5'-фрагмент мітохондріального гена *COI* (*cox1*), що кодує першу субодиницю цитохром С оксидази, розміром 650 нуклеотидів [10]. До того часу, як запропонува-

но ДНК-штрихкування, ген *cox1* досліджували вже більш 20 років, а його нуклеотидна послідовність прочитана у кількох тисяч видів тварин. Але слід підкреслити, що для деяких груп тварин (поліпи, амфібії, нематоди та інш.) виникли проблеми при використанні даної ділянки та обговорюється можливість використання альтернативних ДНК-штрихкодів [11, 12].

ДНК-штрихкування рослин. Пошук та добір ДНК-штрихкодів для рослин виявився набагато складнішим, ніж для тварин. Детально історію пошуку ДНК-штрихкоду рослин викладено в оглядах [13, 14]. За результатами досліджень ділянок хлоропластного геному добрано сім потенційних кандидатів-ДНК-штрихкодів: чотири з них є кодуєчими частинами генів *matK*, *rbcL*, *rpoB*, *rpoC1*, три — некодуєчих спейсерів *atpF-atpH*, *trnH-psbA*, *psbK-psbI* [15, 16]. Різні дослідні групи пропонували різні комбінації цих локусів як пріоритетні ДНК-штрихкоди рослин [10–15]. Наприклад, зроблено спробу визначити стандартні штрихкоди ДНК для надземних рослин [17], для чого автори об'єднали дані секвенування 907 зразків (445 покритонасінних, 38 голонасінних і 67 кріптогамних видів) та оцінили сім вищенаведених кандидатних локусів із використанням критеріїв CBOI щодо стандартів та принципів вибору локусу. Автори рекомендують комбінацію двох локусів *rbcL+matK* як штрихкод рослин для рутинного використання в ідентифікації зразків наземних рослин. Більшість дослідників вважають, що для ДНК-штрихкування рослин необхідно використовувати мультилокусний [18] або двоетапний [19] підхід. Також обговорюється можливість використання досить варіабельних, часто вживаних у молекулярно-філогенетичних дослідженнях на видовому рівні, але маючих ряд обмежень внутрішніх транскрибуємих спейсерів ядерних рибосомних генів.

Незважаючи на те, що консенсусу щодо універсального штрихкоду рослин не досягнуто, а відсутність узгодженого стандарту перешкоджає прогресу в штрихкуванні рослин, на даний час існує значна кількість проектів ДНК-штрихкування рослин, які виконуються або в стадії планування (наприклад, проекти TreeBOL, All-genera, GrassBOL, Flora of Korea, Plant Barcoding China, DNA barcoding British bryophytes, Штрихкод флори і фауни Росії).

Ситуація щодо ДНК-штрихкування в Україні. У 2011 р. Національним антарктичним науковим центром Державного агентства з питань науки, інновацій та інформатизації України проведено конкурс наукових та науково-технічних проектів на 2011–2012 роки відповідно до пріоритетних напрямів Державної цільової науково-технічної програми проведення досліджень в Антарктиці на 2011–2020 роки, за результатами якого фінансування отримав проект «Дослідження ядерних та хлоропластних генів як потенційних маркерів для ДНК-штрихкування» Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України за напрямом програми «Створення бази даних генів, що зумовлюють стійкість до екстремальних факторів, проведення досліджень стійкості антарктичної флори до екстремаль-

них факторів на молекулярно-генетичному рівні». Виконано дослідження щодо використання деяких ядерних і хлоропластних генів для видового визначення рослин Антарктики [20]. Інших публікацій щодо досліджень з ДНК-штрихкування в Україні автором не знайдено.

Висновки

Глобалізація торгівлі, зміни клімату та виклики щодо збереження біорізноманіття роблять швидко діагностику видів гострою глобальною необхідністю. Штрихкування на основі ДНК — це потужна, вискоєфективна технологія, безумовною перевагою якої є її демократичність:

- 1) можливість коментарів і критики внесених даних не тільки самими авторами, а й третіми особами;
- 2) стандартизована бібліотека штрихкодів знаходиться у вільному on-line доступі;
- 3) поява мініатюрних комп'ютеризованих секвенаторів розширить опис біорізноманіття в місцевому та глобальному масштабі.

Література

1. Гаевская Е. И. Вместо предисловия // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. — СПб.: ВИР, 2007. — Т. 164. — С. 4–10.
2. Hebert P., Cywinska A., Ball S., deWaard J. Biological identifications through DNA barcodes // Proc. Roy. Soc. London. Ser. B. — 2003. — Vol. 270. — P. 313–321.
3. Hebert P., Ratnasingham S., de Waard J. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species // Proc. Roy. Soc. London. Ser. B. — 2003. — Vol. 270. — P. 96–99.
4. Захаров И. А., Шайкевич Е. В., Ившин Н. В. ДНК-штрихкодирование в энтомологии // Природа. — 2007. — № 9. — С. 1–4.
5. <http://www.barcodeoflife.org>.
6. <http://ibol.org>.
7. Stoeckle M. Taxonomy, DNA, the Bar Code of Life // BioScience. — 2003. — V. 53. — P. 2–3.
8. Kress W., Erickson D. DNA barcodes: Genes, genomics, and bioinformatics // PNAS. — 2008. — Vol. 105, N 8. — P. 2761–2762.
9. Шнеер В. С. ДНК-штрихкодирование видов животных и растений — способ их молекулярной идентификации и изучения биоразнообразия // Журнал общей биологии. — 2009. — Т. 70, № 4. — С. 296–315.
10. Глазко В. И., Столповский Ю. А., Глазко Т. Т. ДНК-штрихкодирование сельскохозяйственных видов животных // Вестник РАН. — 2010. — № 1. — С. 107–113.
11. Sonnenberg R., Nolte A. W., Tautz D. An evaluation of LSU rDNA D1-D2 sequences for their use in species identification // Front. Zool. — 2007. — Vol. 4. — P. 6.
12. Rach J., DeSalle R., Sarkar I. N. et al. Character-based DNA barcoding allows discrimination of genera, species and populations in Odonata // Proc. R. Soc. B. — 2008. — Vol. 275, N 1632. — P. 237–247.
13. Шнеер В. С. ДНК-штрихкодирование — новое направление в сравнительной геномике растений // Генетика. — 2009. — Т. 45, № 11. — С. 1436–1448.
14. Hollingsworth P., Graham S., Little D. Choosing and Using a Plant DNA Barcode // PLoS ONE. — 2011. — Vol. 6, Issue 5. — e19254.

15. Pennisi E. Taxonomy. Wanted: A barcode for plants // Science.— 2007.— Vol. 318.— P. 190–191.

16. Ledford H. Botanical identities: DNA barcoding for plants comes a step closer // Nature.— 2008.— Vol. 451.— P. 616.

17. Hollingsworth P. et al. (CBOL Plant Working Group). A DNA barcode for land plants // PNAS.— 2009.— Vol. 106, № 31.— P. 12794–12797.

18. Savolainen V., Cowan R. S., Vogler A. P. et al. Towards writing the encyclopaedia of life: an introduction to DNA barcoding // Phil. Trans. R. Soc. B.— 2005.— Vol. 360, N 1462.— P. 1805–1811.

19. Newmaster S. G., Fazekas A. J., Ragupathy S. DNA barcoding in land plants: evaluation of rbcL in a multigene tiered approach // Can. J. Bot.— 2006.— Vol. 84, N 3.— P. 335–341.

20. Матвеева Н. А., Курбатова Л. Е., Шаховский А. М. и др. Использование некоторых ядерных и хлоропластных генов для видового определения растений антарктики // Тезисы Междунар. научн. конф. «Современные аспекты генетической инженерии растений». — Киев, 30.05.-01.06.2011 г. — С. 44.

Резюме

Представлений короткий огляд нового підходу в видовій ідентифікації тварин і рослин — ДНК-штрихкодування. Описано суть технології, пошуки ДНК-штрихкодів тварин і рослин. Наведено історію створення консорціуму «Штрихкод життя» та міжнародного проекту «Штрихкодування життя».

Представлен краткий обзор нового подхода в видовой идентификации животных и растений — ДНК-штрихкодирование. Описаны суть технологии, поиски ДНК-штрихкодов животных и растений. Приведена история создания консорциума «Штрихкод жизни» и международного проекта «Штрихкодирование жизни».

Brief review of the new approach to animals and plants species identification — DNA barcoding is presented. We describe the technology essence, plants and animals DNA barcodes searching. Consortium for the Barcode of Life and «International Barcode of Life» Project History is shown.

ГУРАЛЬЧУК Ж. З.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: azhanna@ukr.net

ДІЯ ГЕРБІЦИДІВ НА ВМІСТ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У КУЛЬТУРНИХ РОСЛИНАХ

Високий рівень забур'яненості посівів передбачає широке застосування гербіцидів, однак взаємодії між гербіцидами і елементами живлення, зокрема, мікроелементами, не приділялось значної уваги. Лише в небагатьох дослідженнях було зроблено спробу виокремити вплив гербіцидів на продуктивність культурних рослин саме через зміни у їх живленні. При вирощуванні рослин за оптимального забезпечення добривами дія гербіцидів на живлення рослин може бути незначною, але мати чітко виражений вплив за недостатнього рівня поживних речовин у ґрунті [11].

Серед гербіцидів, які застосовуються на посівах пшениці, чи не найбільша кількість досліджень присвячена дії на вміст елементів живлення хлорсульфурону, який належить до групи похідних сульфонілсечовини. Сульфонілсечовини зменшують ділення клітин і призводять до пригнічення росту коренів і пагонів [14]. Наявні в літературі дані свідчать про те, що використання хлорсульфурону може погіршувати прояв цинкового дефіциту у пшениці, яку вирощували на бідних на цинк ґрунтах Західної Австралії [4]. У дослідях з проростками пшениці було показано, що хлорсульфурон інгібував ріст їх надземної частини і коренів, а також поглинання цинку, міді й фосфору, причому цей ефект був менший за підвищеного рівня забезпеченості рослин поживними елементами [16]. Негативна дія гербіциду може зменшуватись з часом через його деградацію [10].

Осборн і спіавт. [12] було показано, що в умовах закритого ґрунту хлорсульфурон інгібував ріст рослин пшениці. При цьому спостерігалось зменшення поглинання ними фосфору, особливо за низького рівня забезпеченості цим елементом. Хлорсульфурон знижував поглинання калію, але не впливав на надходження азоту, кальцію і магнію. У польових умовах цей гербіцид зменшив концентрацію низки елементів у надземній частині рослин, особливо на ранніх етапах вегетації. В порядку зменшення чутливості до застосування хлорсульфурону елементи можна розмістити таким чином: макроеlementи фосфор, калій > азот, сірка > кальцій, магній і мікроеlementи цинк, мідь > марганець > залізо. Слід зазначити, що в дії хлорсульфурону на рослини пшениці спостерігались сортові відмінності (сорт Kulin був чутливіший, ніж Reeves).

На відміну від хлорсульфурону, застосування гербіциду, що належить до групи арілоксифенілоксипропіонатів — діклофоп-метилу, менше впливало на вміст поживних речовин у надземній частині рослин [12]. Дія діклофоп-метилу також залежала від генотипу: зниження концентрації міді у зерні спостерігали лише у одного сорту — Kulin. Діклофоп-метил викликав швидку деполаризацію плазматичних мембран колеоптилів вівса [18, 22], тоді як хлорсульфурон не чинив значної дії на мембранний потенціал колеоптилів цих рослин [22].

Генотипові відмінності в дії хлорсульфурону були отримані і в дослідженні Танг і Робсон [19], проведеному в умовах закритого ґрунту, де вивчали вплив хлорсульфурону на поглинання і використання міді рослинами пшениці (*Triticum aestivum* L.) чотирьох сортів. Показано, що застосування хлорсульфурону зменшувало концентрацію міді в рослинах пшениці за різних рівнів живлення даним елементом. При цьому в рослинах з недостатнім живленням Си хлорсульфурон посилив прояви її дефіциту. Маса пагонів помітно знизилася за дії хлорсульфурону на всіх рівнях Си, за рахунок зменшення числа пагонів і довжини листків. Неоднакова чутливість сортів пшениці до дії хлорсульфурону була пов'язана з їх чутливістю до нестачі

чі Cu. Передбачається, що застосування хлорсульфурону викликає дефіцит міді в рослинах пшениці, головним чином, через вплив на її поглинання.

Зниження концентрації іншого елемента — цинку в надземній частині пшениці за обробки хлорсульфуроном може бути зумовлене редукованим ростом коренів та зменшенням їх поглинальної поверхні [6, 9]. Експозиція у хлорсульфуроні негативно позначилась на загальній довжині коренів діаметром $<0,2$ мм, таким чином, зменшуючи площу поверхні й поглинання цинку, міді та марганцю [15], що в подальшому може призвести до їх відставання у рості, а також до зниження врожаю.

За дії хлорсульфурону спостерігалась тенденція до зменшення чистого (нетто) поглинання міді та марганцю трьома досліджуваними сортами пшениці (цинк-ефективним Excalibur і цинк-неефективними Gatcher і Durati), і чистого поглинання цинку у рослин цинк-неефективних сортів, незалежно від тривалості експозиції. На відміну від них, цинк-ефективний сорт Excalibur потребував 6–10-денної експозиції у хлорсульфуроні для зменшення чистого поглинання цинку [15]. Властива даному цинк-ефективному сорту пшениці наявність більшої довжини коренів діаметром $<0,2$ мм послаблює негативну дію хлорсульфурону на ріст коренів і поглинання мікроелементів порівняно з двома іншими генотипами пшениці.

Хлорсульфурон інгібує ріст коренів пшениці, а підвищені концентрації Zn можуть полегшити або запобігти негативним ефектам хлорсульфурону [21]. Як припускають дослідники, це може відбуватись через імовірний позитивний вплив цинку на структуру мембран коренів завдяки підтримуванню сульфгідрильних груп плазматичних мембран у відновленій формі або зменшення проникності мембран для хлорсульфурону. Додаткове внесення цинку може також поліпшувати фізіологічний статус рослин, підвищуючи їх толерантність до хлорсульфурону. Слід зазначити, що хлорсульфурон після тривалої експозиції чинить негативний, але оборотний вплив на надходження цинку через плазматичну мембрану [20]. Рослини, які зазнавали дії хлорсульфурону протягом 3 діб, потребували подальшої 5-денної експозиції в розчинах з його виключенням для того, щоб швидкість поглинання цинку відновилась до контрольного рівня.

В літературі є дані про те, що внесення мікроелементів у розчини для обприскування внаслідок формування комплексів з металами зменшує ефективність іншого гербіциду — гліфосату, який є інгібітором ферменту 5-енолпірувільшикімат-3-фосфатсинтази (КФ 2.5.1.19) [7]. Утворення таких комплексів у тканинах рослин може порушувати живлення мікроелементами у нецільових рослин, на які потрапляє гліфосат, що зноситься при обприскуванні. Так, в дослідях з моделюванням зносу гербіциду шляхом обприскування рослин сояшника гліфосатом (від 1,25 до 6 % рекомендованої дози) значно зменшувалась концентрація заліза і марганцю в листках, і меншою мірою — цинку і міді (рослини вирощували на поживному розчині в контрольованих умовах). У короткотривалих експериментах через 12 і

24 год після внесення 6% рекомендованої дози гліфосату значно знизилось поглинання ^{59}Fe і ^{54}Mn і майже повністю інгібувалось переміщення цих елементів з кореня до пагона. Через 6 год після застосування гліфосату (6% від рекомендованої дози) активність Fe-редуктази — фермента, необхідного для відновлення Fe^{3+} в Fe^{2+} , у коренях сояшника, культивованого в умовах нестачі заліза, інгібувалась на 50%, а через 24 год — повністю [13].

Обробка гліфосатом в концентрації, що становить 12,5% рекомендованої дози, негативно впливала на асиміляцію нітратів і фіксацію азоту нестійкими до гліфосату рослинами сої [1]. У стійких до цього гербіциду трансгенних рослин сої гліфосат більшою мірою діяв на асиміляцію нітратів порівняно з азотфіксацією [2]. У стійких та нестійких до гліфосату культур за його застосування показано зменшення кількості мікроелементів у надземній частині рослин, особливо марганцю і заліза [3, 7]. У дослідженні Ботт [3] відмічається вища потреба стійких до гліфосату рослин у марганці за обробки цим гербіцидом. Застосування гліфосату на посівах стійкої до цього гербіциду сої, незалежно від сорту, може негативно впливати на складні взаємодії між групами мікроорганізмів [23]. Вважають, що внаслідок застосування гліфосату можуть зменшуватися популяції мікроорганізмів, що відновлюють марганець (а він, як відомо, поглинається рослиною у відновленій формі Mn^{2+}) [8].

Принагідно слід зазначити що в літературі немає однозначної думки щодо впливу гліфосату на вміст мікроелементів, оскільки є й протилежні дані, які свідчать про відсутність дії гліфосату на ріст стійких до даного гербіциду рослин сої трьох сортів та поглинання, накопичення і перерозподіл у них марганцю [17].

На прикладі окремих гербіцидів продемонстровано їх вплив на поглинання й акумуляцію мікроелементів культурними рослинами, причому цей ефект може бути неоднаковим залежно від генотипу рослин. Необхідним є подальше вивчення впливу гербіцидів, що належать до різних класів, на живлення рослин макро- та мікроелементами та врахування можливої їх взаємодії у практиці сільськогосподарського виробництва.

Література

1. Bellaloui N., Reddy K. N., Zablotowicz R. M., Mengistu A. Simulated glyphosate drift influences nitrate assimilation and nitrogen fixation in non-glyphosate-resistant soybean // J. Agric. Food Chem. — 2006. — 54, № 9. — P. 3357–3364.
2. Bellaloui N., Zablotowicz R. M., Reddy K. N., Abel C. A. Nitrogen metabolism and seed composition as influenced by glyphosate application in glyphosate-resistant soybean // J. Agric. Food Chem. — 2008. — 56, № 8. — P. 2765–2772.
3. Glyphosate-induced impairment of plant growth and micronutrient status in glyphosate-resistant soybean (*Glycine max* L.) // Plant and Soil. — 2008. — 312. — P. 185–194.
4. Bowran D. G., Porritt S., Madin R. Chlorsulfuron and diclofopmethyl effects on the copper and zinc status and yield of wheat // Proc. Eighth Austral. Weeds Conf. / Lemerle D., Leys A. R., eds. — 1987. — P. 404–407.

5. *Cakmak I., Yazici A., Tutus Y., Ozturk L.* Glyphosate reduced seed and leaf concentrations of calcium, manganese, magnesium, and iron in non-glyphosate resistant soybean // *Eur. J. Agron.* — 2009. — 31. — P. 114–119.
6. *Dong B., Rengel Z., Graham R. D.* Effects of herbicide chlorsulfuron on growth and nutrient uptake parameters of wheat genotypes differing in Zn-efficiency // *Plant and Soil.* — 1995. — 173. — P. 275–282.
7. *Eker S., Ozturk L., Yazici A., Erenoglu B., Romheld V., Cakmak I.* Foliar applied glyphosate substantially reduced uptake and transport of iron and manganese in sunflower (*Helianthus annuus* L.) plants // *J. Agric. Bot. S., Tesfamariam T., Candan H., Cakmak I., Roemheld V., Neumann G.* Chem. — 2006. — 54, N 26. — P. 10019–10025.
8. *Johal G. S., Huber D. M.* Glyphosate effects on diseases of plants // *Europ. J. Agronomy.* — 2009. — 31. — P. 144–152.
9. *McLay L. D., Robson A. D.* The effect of chlorsulfuron and diclofop-methyl on the uptake and utilization of zinc by wheat // *Austral. J. Agric. Res.* — 1992. — 43. — P. 59–65.
10. *Osborne L. D., Robson A. D.* Duration of zinc uptake inhibition by chlorsulfuron in wheat // *Austral. J. Agric. Res.* — 1992. — 43. — P. 1169–1174.
11. *Osborne L. D., Robson A. D.* What is the significance of herbicide-nutrient interactions on wheat? // *Plant and Soil.* — 1993. — 155/156. — P. 529–532.
12. *Osborne L. D., Robson A. D., Bowran D. G.* The impact of chlorsulfuron and diclofop-methyl on nutrient uptake by wheat // *Austral. J. Agric. Research.* — 1993. — 44. — P. 1757–1766.
13. *Ozturk L., Yazici A., Eker S., Gokmen O., Römheld V., Cakmak I.* Glyphosate inhibition of ferric reductase activity in iron deficient sunflower roots // *New Phytol.* — 2008. — 177, № 4. — P. 899–906.
14. *Ray T. B.* The mode of action for chlorsulfuron: A new herbicide for cereals // *Pesticide Biochem. and Physiol.* — 1982. — 17. — P. 10–17.
15. *Rengel Z., Wheal M. S.* Herbicide chlorsulfuron decreases growth of fine roots and micronutrient uptake in wheat genotypes // *J. Exp. Botany.* — 1997. — 48. — P. 924–927.
16. *Robson A. D., Snowball K.* The effect of chlorsulfuron on the uptake and utilization of copper and zinc in wheat // *Austral. J. Agric. Res.* — 1990. — 41, N1. — P. 19–27.
17. *Rosolem C. A., de Andrade G. J. M., Lisboa I. P., Zoca S. M.* Manganese uptake and redistribution in soybean as affected by glyphosate // *R. Bras. Ci. Solo.* — 2010. — 34. — P. 1915–1922.
18. *Shimabukuro R. H., Hoffer B. L.* Effects on transmembrane proton gradient and lipid biosynthesis in the mode of action of diclofop-methyl // *Pesticide Biochem. and Physiol.* — 1994. — 48. — P. 85–97.
19. *Tang C., Robson A. D.* Cultivar variation in the effect of chlorsulfuron in depressing the uptake of copper in wheat // *Plant and Soil.* — 2000. — 225, N 1. — P. 11–20.
20. *Wheal M., Rengel Z.* Chlorsulfuron reduces rates of zinc uptake by wheat seedlings from solution culture // *Plant and Soil.* — 1997. — 188, N2. — P. 309–317.
21. *Wheal M. S., Rengel Z., Graham R. D.* Chlorsulfuron reduces extension of wheat root tips in low-zinc solution culture // *Ann. Bot.* — 1998. — 81. — P. 385–389.
22. *Wright J. P.* Use of membrane potential measurements to study mode of action of diclofop-methyl // *Weed Science.* — 1994. — 42. — P. 285–292.
23. *Zobiole L. H., Kremer R. J., Oliveira R. Jr., Constantin J.* Glyphosate affects micro-organisms in rhizospheres of glyphosate-resistant soybeans // *J. Appl. Microbiol.* — 2011. — 110, № 1. — P. 118–127.

Резюме

У статті розглядаються дані про вплив гербіцидів на поглинання і нагромадження мікроелементів у рослинах. Аналізується дія окремих гербіцидів (хлорсульфурону, діклофоп-метилу, гліфосату) на вміст мікроелементів у рослинах залежно від їх генотипу та обґрунтовується необхідність подальшого вивчення впливу гербіцидів на процеси живлення рослин.

В статье рассматриваются данные о влиянии гербицидов на поглощение и накопление микроэлементов в растениях. Анализируется действие отдельных гербицидов (хлорсульфурона, диклофоп-метила, глифосата) на содержание микроэлементов в растениях в зависимости от их генотипа и обосновывается необходимость последующего изучения влияния гербицидов на процессы питания растений.

In the article information about influence of herbicides on uptake and accumulation of micronutrients by plants is presented. Effects of separate herbicides (chlorsulfuron, diclofop-methyl, glyphosate) on micronutrient contents in plants depending on their genotype are analyzed and the necessity of subsequent study of herbicides influence on plant nutrition is grounded.

ЖУК В.В., МУСИЄНКО М.М.

ІНЦ «Інститут біології» Київського національного університету
імені Тараса Шевченка, Україна, 01601, вул. Володимирська, 64/13,
e-mail: zhuk_bas@voliacable.com

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ЦИТОКІНІНУ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ ЯРОЇ ПШЕНИЦІ ЗА УМОВ ПОСУХИ

Посуха є одним з найбільш поширених несприятливих чинників середовища, а території з аридним кліматом займають від 35 до 45 % суходолу. Дослідження стійкості рослин до посухи належить до важливих біологічних проблем сучасності [1]. Підвищення посухостійкості важливих зернових продовольчих культур є актуальною проблемою сучасного землеробства, адже дефіцит води та надлишкове тепло призводять до зменшення ефективності фотосинтезу, пригнічення росту рослин, зниження їх продуктивності. Важливу роль у реакції рослин на посуху відіграють цитокініни, які є компонентами сигналу про дефіцит води в ґрунті, регулюють біосинтез хлорофілу, активність антиоксидантних ферментів [2, 3, 4, 5, 6]. Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що обробка рослин злаків екзогенним цитокініном за умов дії природної посухи підвищувала продуктивність рослин переважно за рахунок подовження функціонування листового апарату та збільшення маси зерна. Метою даної роботи було вивчення дії екзогенного цитокініну на формування продуктивності та стійкості рослин ярої пшениці до дії природної посухи.

Матеріали і методи.

Рослини ярої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сортів Скороспілка 95, Скороспілка 99, Недра вирощували в умовах Київської області на дерново-підзолистому ґрунті. Протягом періоду росту рослин температура пові-

тря та ґрунту коливалась від +12–15 °С у період сходів до 35–40 °С у період цвітіння, формування зерна. Обробку рослин пшениці проводили водним розчином 6-бензиламінопурину (БАП) у концентрації 10^{-4} М за діючою речовиною у фазі виходу в трубку. У фазах колосіння, наливу зерна, молочної стиглості проводили відбір листків контрольного та дослідного варіантів для визначення вмісту пігментів за методом Вінтермана і Мотса [9]. Вимірювання вмісту хлорофілу а і b проводили за довжинами хвилі 649 та 665 нм. Після дозрівання рослин проводили аналіз структури врожаю та визначали врожайність рослин. Достовірність різниці між варіантами оцінювали за критерієм Стюдента при рівні значущості $P < 0,05$.

Результати і обговорення

Показано, що після обробки рослин ярої пшениці сортів Недра, Скороспілка 95 і Скороспілка 99 у фазі виходу в трубку водним розчином БАП затримувалась деструкція хлорофілів в прапорцевих листках (рис. 1). Найбільше збільшився, порівняно з контролем, вміст хлорофілу за дії БАП у ярої пшениці сорту Скороспілка 95 у фазах колосіння, наливу та молочної стиглості зерна.

У пшениці сортів Недра і Скороспілка 99 у фазі колосіння у рослин дослідного варіанту вміст хлорофілу незначно зменшувався, але у сорту Скороспілка 99 у подальшому був вищим, порівняно з контролем. Отже, у сортів Скороспілка 95 і Скороспілка 99 обробка БАП затримувала деструкцію хлорофілу і старіння листків в умовах польового досліді за дії посухи.

Визначення морфометричних параметрів рослин дозволило встановити, що після обробки БАП збільшувалась висота стебла у сортів Недра і Скороспілка 99 (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив посухи та БАП на морфометричні параметри рослин ярої пшениці

Сорт, варіант	Довжина стебла, см	Довжина колоса, см	Довжина прапорцевого листка, см	Кількість колосків у колосі, шт	Кількість зерен в колосі, шт
Недра, контроль	59,8±0,8	7,9±0,2	13,1±0,3	12±1	24±2
Недра, БАП	65,6±1,1	8,3±0,3	14,5±0,4	13±2	26±1
Скороспілка 95, контроль	57,6±0,7	6,3±0,2	13,4±0,5	10±1	18±1
Скороспілка 95, БАП	54,5±0,6	6,2±0,1	15,2±0,3	10±1	22±2
Скороспілка 99, контроль	56,2±0,8	7,1±0,2	13,8±0,3	10±1	18±1
Скороспілка 99, БАП	62,4±1,0	7,3±0,1	14,7±0,4	11±1	21±1

Довжина прапорцевого листка достовірно збільшувалась у всіх сортів, однак найбільше у сорту Скороспілка 95. Суттєве збільшення зерен у колосі виявлено у всіх сортів ярої пшениці.

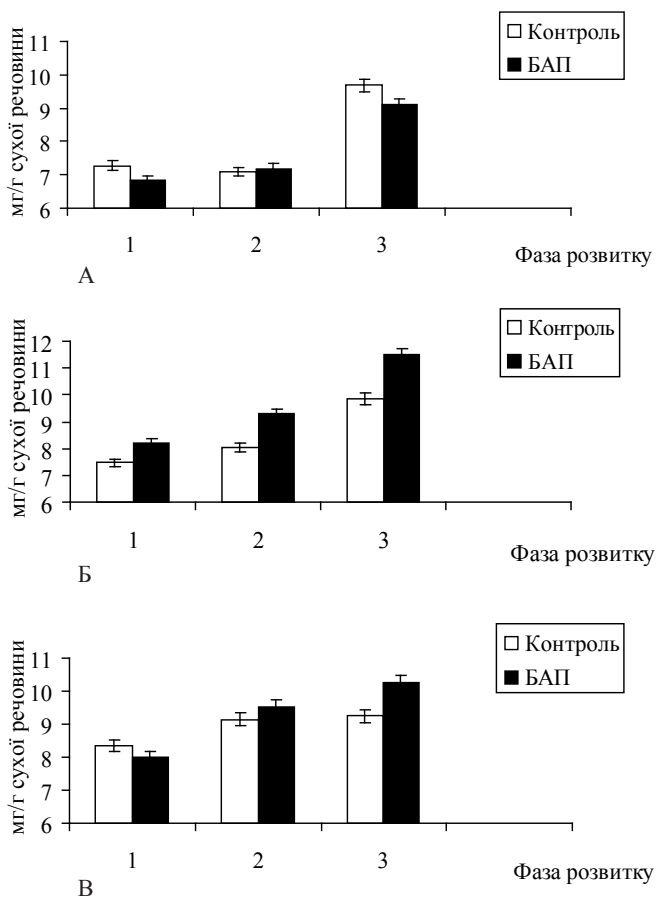


Рис. 1. Вплив БАП на сумарний вміст хлорофілів у прапорцевих листках пшениці сортів:

А — Недра, Б — Скороспілка 95, В — Скороспілка 99 за дії природної посухи (фаза розвитку 1 — колосіння, 2 — налив зерна, 3 — молочна стиглість)

Визначення продуктивності рослин ярої пшениці після дозрівання врожаю дозволило встановити, що найбільший вплив обробка рослин у фазі виходу в трубку БАП виявила на наростання маси зерна (табл. 2).

Значне збільшення маси 1000 зерен після обробки рослин ярої пшениці БАП відзначено у всіх вивчених нами сортів. Найбільше маса зерен збільшилась у сорту Скороспілка 99. Врожайність ярої пшениці в умовах тривалої природної посухи, яка була відзначена у фазах цвітіння, формування та молочної стиглості зерна в умовах Київської області, значно змен-

Вплив посухи та БАП на продуктивність рослин ярої пшениці

Сорт, варіант	Продуктивність	
	Маса 1000 зерен, г	Врожайність, ц/га
Недра, контроль	36,0±0,2	23,2±0,8
Недра, БАП	40,1±0,3	26,3±1,2
Скороспілка 95, контроль	33,8±0,2	13,4±0,7
Скороспілка 95, БАП	37,8±0,2	18,1±0,9
Скороспілка 99, контроль	34,9±0,4	18,4±1,0
Скороспілка 99, БАП	42,3±0,3	24,0±1,2

шувала врожайність ярої пшениці. Найменшу стійкість до дії посухи виявив сорт Скороспілка 95, а найвищу — сорт Недра. Після обробки рослин ярої пшениці БАП відзначено збільшення врожайності у всіх вивчених нами сортів ярої пшениці, але найбільше у сортів Скороспілка 95 і Скороспілка 99. Таким чином, обробка рослин ярої пшениці екзогенним цитокініном БАП зменшувала стресову дію природної посухи на рослини ярої пшениці, затримувала процеси старіння і деструкції пігментного комплексу. Відкриття акцепторів цитокінінів дозволило встановити, що головним місцем їх дії є клітини листового мезофілу [2]. Показано, що запуск синтезу попередників молекул хлорофілу відбувається за участю цитокінінів [3]. Всі ці ефекти дозволяють вважати, що фізіологічна дія БАП проявилась переважно шляхом затримки деструктивних процесів в пігментному комплексі листового мезофілу.

Висновки

1. Встановлено, що дія екзогенного БАП на рослини пшениці затримувала деструкцію пігментного комплексу, збільшувала тривалість функціонування прапорцевих листків.

2. Показано, що обробка рослин ярої пшениці у фазі виходу в трубку підвищувала їх продуктивність за умов тривалої природної посухи за рахунок збільшення маси 1000 зерен.

Література

1. Іващенко О. О., Рудник-Іващенко О. І. Напрями адаптації аграрного виробництва до змін клімату // Вісник аграрної науки. — 2011. — № 8. — С. 10–12.
2. Романов Г. А. Как цитокинины действуют на клетку? // Физиология растений. — 2009. — 56, № 2. — С. 295–319.
3. Яронская Е. Б., Грицкевич Е. П., Трихановец Н. Л., Аверина Н. Г. Влияние кинетина на активность начальных этапов биосинтеза хлорофилла в обработанных стрептомицином проростках ячменя // Физиология растений. — 2006. — Т. 54, № 3. — С. 440–448.
4. Мусієнко М. М., Жук В. В. Вплив екзогенного цитокініну на стійкість пшениці за умов посухи // Вісник аграрної науки. — 2011. — № 3 (695). — С. 34–36.
5. Жук В. В., Мусієнко М. М. Використання аналога природних цитокінінів для зменшення негативної дії дефіциту води на продуктивність зернових // Агроекологічний журнал. — 2011. — Спецвипуск. — С. 60–62.

6. Hutchison C. E., Kieber J. J. Cytokinin signaling in Arabidopsis // Plant Cell. — 2002. — 14, N 1. — P. 47–59.

7. Lavalette-Mancera H. A., Lopez-Delgado H., Loza-Tavera H., Mora-Herrera M., Trevilla-Garcia C., Vargas-Suarez M., Ougham H. Cytokinin promotes catalase and ascorbate peroxidase activities and preserves the chloroplast integrity during dark // J. Plant Physiol. — 2007. — V. 164, N 12. — P. 1572–1582.

8. Schachtman D. P., Goodger Q. D. Chemical root to shoot signaling under drought // Trends Plant Science. — 2008. — V. 13, N 6. — P. 281–287.

9. Winternans J. F. G., de Mots A. Spectrophotometric characteristics of chlorophylls a and b and their pheophytins in ethanol//Biochem.Biophys. Acta. — 1965. — Vol. 109. — P. 448–453.

Резюме

Встановлено, що обробка рослин ярої пшениці сортів Недра, Скороспілка 95, Скороспілка 99 у фазі виходу в трубку екзогенним цитокиніном БАП затримувала деструкцію хлорофілу в прапорцевих листках, збільшувала кількість зерен в колосі, масу 1000 зерен та продуктивність посіву в умовах природної посухи, яку відзначали в період цвітіння, формування та молочної стиглості зерна.

Установлено, що обробка растений яровой пшеницы сортов Недра, Скороспилка 95. Скороспилка 99 в фазе выхода в трубку экзогенным цитокинином БАП задерживала деструкцию хлорофилла в флаговых листьях, увеличивала количество зерен в колосе, массу 1000 зерен и продуктивность посева в условиях природной засухи, которую отмечали в период цветения, формирования и молочной спелости зерна.

It is established that exogenous cytokinin BAP treatment of spring wheat plants varieties Nedra, Skorospilka 95, Skorospilka 99 in booting phase delayed chlorophyll destruction in last leaves, increased grain quantity in ear, 1000 grains weight and crops productivity under natural drought conditions that were detected in period of flowering, formation and milky ripeness of ear.

ЖУК І.В., ДМИТРИЄВ О.П.

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України,
03680 м. Київ, вул. акад. Заболотного, 148
e-mail: iren_zhuk@mail.ru*

ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ОКСИДУ АЗОТУ НА ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ ЯРОЇ ПШЕНИЦІ В ПОЛЬОВИХ УМОВАХ

Одним з найбільш перспективних шляхів зменшення втрат врожаю є індукування природної стійкості культурних рослин до біотичних та абіотичних стресів [1, 2]. Більшість сучасних сортів ярої пшениці мають короткий вегетаційний період, що підвищує їх стрес-чутливість у критичні для формування врожаю фази онтогенезу. Пошук нових екологічно безпечних методів захисту рослин є, безумовно, дуже актуальним. Останнім часом значну увагу приділяють сполукам, які є природними компонентами метаболізму рослин. До їх числа належить, зокрема, оксид азоту (NO). Вста-

новлено, що NO синтезується в процесі метаболізму амінокислот та утилізації неорганічного азоту, синергічно взаємодіє з активними формами кисню (АФК), бере участь у адаптивній відповіді рослинних клітин на стресові чинники середовища [3]. Оксид азоту здатний регулювати активність гем-місних ферментів, до яких належать пероксидази, що розкладають пероксид водню та беруть участь у синтезі лігнінів клітинних стінок [4]. Показано, що NO задіяний у регуляції рухів замикальних клітин продихів та виконує роль вторинного месенджера в реалізації реакції надчутливості у відповідь на біотичний стрес [5, 6]. Метою цієї роботи було вивчення впливу екзогенного NO на системну стійкість рослин ярої пшениці за умов природної посухи.

Матеріали та методи

Рослини ярої пшениці (*Triticum aestivum* L.) двох сортів — Миронівська яра та Дніпрянка вирощували в умовах польового дослідження на ділянках дослідного господарства НАН України «Феофанія». Ґрунт дерново-підзолистий. Розміри дослідної ділянки 1 м², повторність дослідження чотириразова. Температура повітря у посіві досягала 40 °С. Обробку водним розчином донору оксиду азоту — нітропрусиду натрію (НПН) проводили у фазі виходу в трубку. Вивчення водного режиму рослин проводили визначенням вмісту води у листках протягом періоду від виходу в трубку до початку молочної стиглості зерна. Активність пероксидази (КФ 1.11.1.7) визначали в листках за стандартною методикою, використовуючи в якості донора протонів бензидин [7]. В період формування зерна пшениці була вивчена динаміка наростання маси зернівок, а після закінчення дозрівання проведені вимірювання морфометричних параметрів рослин пшениці і розрахунок продуктивності. Статистичну обробку даних проводили з використанням критерію Стюдента.

Результати і обговорення

Обробка рослин стійкого сорту ярої пшениці Дніпрянка донором оксиду азоту зменшувала втрати ними води за умов природної посухи (рис. 1 Б).

У рослин слабостійкого сорту Миронівська яра дія донору NO не зменшувала втрати води листками (рис. 1 А). Вплив оксиду азоту на водний статус прапорцевих листків пшениці сортів Миронівська яра та Дніпрянка відзначено протягом 15 діб, коли відбувався перехід від фази виходу в трубку до молочної стиглості зерна (рис. 1 Б). Можна вважати, що дія NO на водний статус прапорцевих листків ярої пшениці обумовлена специфікою сорту. Зокрема, це може бути пов'язано зі специфікою морфоструктури листка та розташуванням продихів на поверхні листової пластинки.

Вивчення впливу донору NO на активність пероксидази клітин мезофілу листків показало, що ця активність зменшувалась у пшениці Миронівська яра у фазі виходу в трубку (рис. 2 А). У фазі молочної стиглості зерна

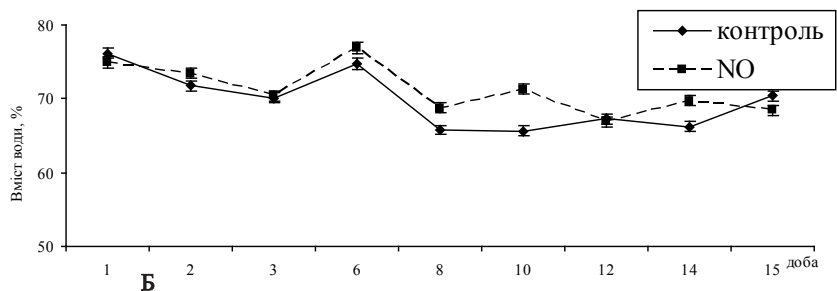
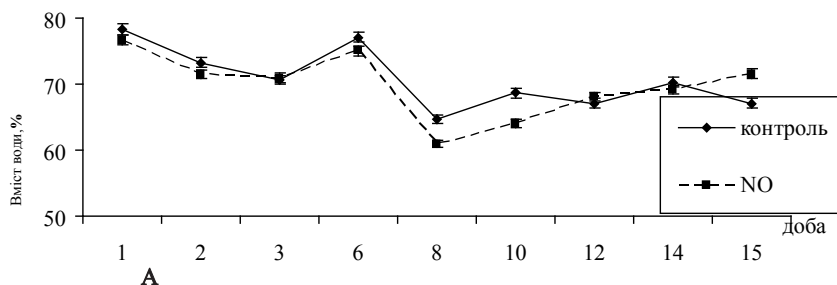


Рис. 1. Вплив природної посухи та донору NO на вміст води у прапорцевому листку ярої пшениці сорту Миронівська яра (А), Дніпрянка (Б)

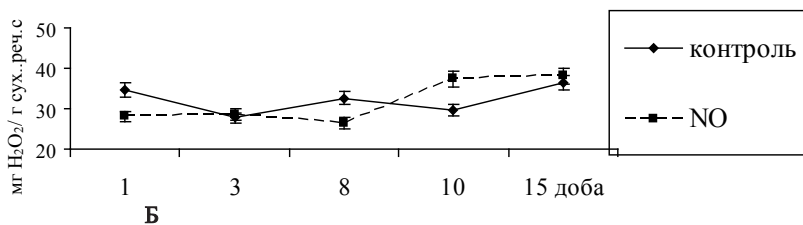
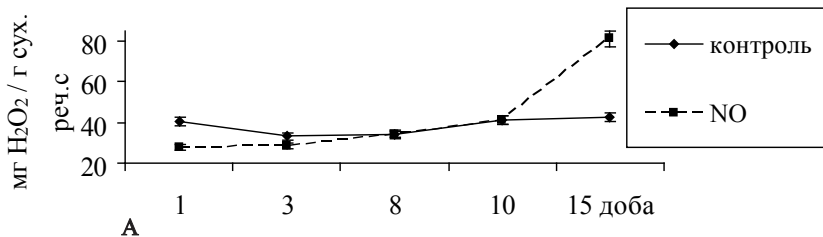


Рис. 2. Динаміка активності пероксидази у листках ярої пшениці сорту Миронівська яра (А), Дніпрянка (Б)

активність пероксидази в листках дослідного варіанту збільшувалась вдвічі і досягала найвищих рівнів у період проведення дослідів.

Аналіз динаміки активності пероксидази в прапорцевому листку ярої пшениці сорту Дніпрянка показав, що у обробленому донором NO листі активність пероксидази зменшувалась порівняно до контролю (рис. 2 Б). У фазі формування зерна активність цього фермента у дослідному варіанті збільшувалась, залишалась на тому ж рівні до фази молочної стиглості зерна і була найвищою за весь період проведення дослідів. Таким чином, зміни активності пероксидази у прапорцевих листках ярої пшениці обумовлені специфікою сортової реакції на дію екзогенного NO та посухи.

Дослідження динаміки наростання маси зернівок показало, що обробка рослин донором NO стимулювала ріст зернівки за умов дії природної посухи, що призвело до збільшення маси зрілих насінин (табл. 1). Найбільш значний ефект дії NO отримано для сорту Дніпрянка. Зміни вмісту води в зернівках свідчать, що наростання маси зернівок відбувалось за рахунок накопичення сухої речовини, особливо за дії NO.

Таблиця 1

Вплив посухи та донору NO на наростання маси зернівок ярої пшениці

Сорт, варіант	Доба після обробки					
	8		10		15	
	Маса зернівки, мг	Вміст води, %	Маса зернівки, мг	Вміст води, %	Маса зернівки, мг	Вміст води, %
1 а	15,1±0,2	75,1±0,3	22,4±0,3	70,3±0,5	33,3±0,4	69,3±0,5
1 б	15,7±0,3	76,8±0,5	24,6±0,4	69,5±0,4	36,4±0,3	68,3±0,4
2 а	22,7±0,3	73,8±0,5	31,2±0,3	71,3±0,3	43,1±0,3	60,8±0,4
2 б	25,8±0,4	72,5±0,3	31,3±0,3	71,4±0,3	49,0±0,4	65,7±0,5

Примітка. 1 — Миронівська яра; 2 — Дніпрянка; а — контроль; б — NO.

Встановлено достовірне збільшення висоти стебла у пшениці сорту Дніпрянка після обробки рослин донором NO, що вказує на стимуляцію росту останнього міжвузля (табл. 2). Обробка донором NO достовірно збільшувала масу 1000 зерен і продуктивність ярої пшениці сортів Миронівська яра та Дніпрянка.

Таблиця 2

Вплив обробки донором NO на морфометричні параметри та продуктивність рослин ярої пшениці

Сорт, варіант	Висота стебла, см	Довжина листка, см	Довжина колоса, см	Колосків у колосі, шт.	Зерен в колосі, шт.	Маса 1000 зерен, г	Продуктивність, ц/га
1 а	75,1±3,7	16,4±0,3	8,9±0,4	13±2	27±1	26,7±0,4	24,3±0,4
1 б	74,3±3,7	17,4±0,4	8,4±0,4	14±1	29±2	29,6±0,5	27,4±0,6
2 а	73,5±3,6	17,5±0,3	8,9±0,4	14±2	27±2	35,9±0,6	28,3±0,4
2 б	84,0±4,2	18,7±0,3	8,6±0,4	16±2	29±1	42,3±0,6	35,9±0,7

Примітка. 1 — Миронівська яра; 2 — Дніпрянка; а — контроль; б — NO.

Очевидно, що у практичному вирішенні завдань селекції важлива роль належить підвищенню загальної та специфічної адаптивної стійкості рослин. Відомо, що стійкість, як один з проявів надійності рослинного організму, це — його виживаність та вірогідність ефективного функціонування за умов дії різних стресових чинників довкілля. В ході еволюції у рослин утворилися механізми використання різних продуктів метаболізму в якості ендогенних регуляторів в клітинах, де вони утворилися, або в клітинах, куди вони системно транспортуються.

Одержані нами дані свідчать, що дія донору NO на рослини двох сортів ярої пшениці підвищувала їх стійкість за умов природної посухи, зменшувала втрати врожаю і сприяла більш повній реалізації продуктивного потенціалу рослин.

Висновки

Показано, що обробка рослин двох сортів ярої пшениці — Миронівська яра та Дніпрянка донором оксиду азоту індукує їх системну стійкість за умов природної посухи. При цьому відбувається зменшення втрат води листками, зростання активності пероксидази клітин мезофілу прапорцевих листків, а також підвищення продуктивності рослин за рахунок збільшення маси зерна.

Література

1. Жук І. В., Мусієнко М. М. Вплив оксиду азоту на рослини пшениці в умовах посухи // Вісник аграрної науки. — 2010. — 5. — С. 32–34.
2. Дмитриев А. П. Сигнальная роль оксида азота у растений // Цитология и генетика. — 2004. — 38. — С. 67–75.
3. Дмитриев А. П., Гродзинский Д. М., Полищук В. П. Индуцирование системной устойчивости у растений биогенными индукторами // Вісник Харківського національного університету. Серія Біологія. — 2005. — 3. — С. 24–36.
4. Garcia-Mata C., Lamattina L. Nitric oxide induces stomatal closure and enhances the adaptive plant responses against drought stress // Plant Physiol. — 2001. — 126. — P. 1196–1204.
5. Beligni M. V., Lamattina L. Nitric oxide counteracts cytotoxic processes mediated by reactive oxygen species in plant tissues // Planta. — 1999. — 208. — P. 337–344.
6. Dmitriev A. P. Signal molecules for plant defense responses to biotic stress / A. P. Dmitriev // Ботаника и микология: Совр. горизонты. Сб. тр. / Отв. ред. А. А. Созинов. — К.: Академперіодика, 2007. — С. 54–67.
7. Seevers P. M., Daly J. M., Catedral F. F. The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease // Plant Physiol. — 1971. — Vol. 48, № 3. — P. 353–360.

Резюме

Показано, що екзогенний оксид азоту індукував системну стійкість у рослин двох сортів ярої пшениці — Миронівська яра та Дніпрянка за умов природної посухи. При цьому відбувається зменшення втрат води листками, зростання активності пероксидази клітин мезофілу прапорцевих листків, а також підвищення продуктивності рослин за рахунок збільшення маси зерна.

Показано, что экзогенный оксид азота индуцировал системную устойчивость у растений двух сортов яровой пшеницы к условиям природной засухи.

При этом происходит уменьшение потери воды листьями, увеличение активности пероксидазы клеток мезофилла флаговых листьев, а также повышение продуктивности растений за счет увеличения массы зерна.

It is shown that exogenic nitric oxide induced systemic resistance of two spring wheat plants varieties — Mironivska jara and Dnypryanka to natural drought conditions. That was accompanied with decreasing of water losses in leaves, increasing of peroxidase activity in last leaves mezophyll cells, but also with productivity increasing due to grains mass enlarging.

КІРІЗІЙ Д. А., РИЖИКОВА П. Л.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: kiriziy@ukrpost.net

СОРТОВІ ОСОБЛИВОСТІ АСИМІЛЯЦІЇ CO₂ В ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ЗАЛЕЖНО ВІД УМОВ ОСВІТЛЕННЯ ТА МІНЕРАЛЬНОГО ЖИВЛЕННЯ

Як показано нами раніше, нові високопродуктивні сорти пшениці за оптимальних умов освітлення та мінерального живлення мають вищий рівень інтенсивності фотосинтезу листків порівняно із сортами старої селекції [1]. Відомо, що інтенсивність фотосинтезу листків тісно пов'язана із забезпеченістю їх азотом [2]. Це зумовлено участю у процесах асиміляції CO₂ великої кількості ферментних і структурних білків, які є основними азотовмісними сполуками в клітині. Так, майже половину розчинного білка клітин мезофілу листків становить основний фермент відновлювального пентозофосфатного циклу — РБФК/О [3]. Вміст азоту в листку залежить від умов мінерального живлення, при цьому для його ефективного засвоєння необхідне збалансоване співвідношення з іншими макроелементами — фосфором і калієм [4]. Рослини пшениці різних генотипів неоднаково реагують на рівень мінерального живлення, але роль фотосинтезу при цьому вивчена недостатньо, особливо у нових високоінтенсивних сортів.

У природних умовах за достатнього водозабезпечення інтенсивність фотосинтезу листка залежить в першу чергу від інтенсивності світла, яка коливається протягом дня у широких межах, а листки нижніх ярусів посіву взагалі весь час перебувають за зниженої освітленості. Тому здатність фотосинтетичного апарату активно функціонувати за різних рівнів освітлення, ефективно використовувати світло у ранкові і вечірні години є важливою складовою продукційного процесу рослин [5, 6].

Виходячи з викладеного, ми поставили на меті виявити генотипні особливості асиміляції CO₂ в рослин пшениці нових високопродуктивних сортів порівняно зі старим менш продуктивним за різних умов забезпеченості азотом та інтенсивності освітлення. Це дасть змогу детальніше оцінити ступінь селекційного поліпшення такої важливої ознаки як асиміля-

ційна активність фотосинтетичного апарату з погляду її екофізіологічної пластичності.

Матеріали та методи

Рослини трьох сортів озимої пшениці — Фаворитка, Смуглянка (високоінтенсивні) і Миронівська 808 (менш продуктивний, старої селекції) — після перезимівлі у природних умовах пересадили навесні (фаза кушіння) у вегетаційні посудини на 10 кг ґрунту (по 20 рослин у посудині). Хімічний аналіз ґрунту, взятого для набивання посудин, виявив у ньому такий вихідний вміст макроелементів: азот нітратний — 0,4 мг/кг, азот лужногідролізований — 1,3 мг/100 г, рухомий фосфор за Чиріковим (P_2O_5) — 17,9 мг/100 г, обмінний калій (K_2O) — 6,6 мг/100 г, рН сольовий — 6,1. За вмістом азоту ґрунт відноситься до дуже бідних, тому головним джерелом азотного живлення рослин у цьому досліді були добрива, внесені при набиванні посудин. Рослини вирощували на двох фонах мінерального живлення — високому та низькому. В першому випадку у посудини при набиванні вносили нітроамофоску у дозі 0,5 г/кг ґрунту. У фазу виходу в трубку рослини в цих посудинах додатково підживили такою самою кількістю нітроамофоски так, що загальна її кількість становила 1 г/кг ґрунту. У посудини із низьким фоном мінерального живлення при набиванні вносили 0,2 г нітроамофоски на кг ґрунту і додатково не підживлювали. Таким чином, доза внесених добрив на низькому фоні мінерального живлення була у 5 разів меншою за високий фон. Посудини розміщували на стелажі вегетаційного майданчика за природного освітлення, вологість ґрунту підтримували на рівні 60–70 % ПВ поливом зверху і в трубку. Дослід було закладено у 6-разовій повторності.

У фазі цвітіння та молочно-воскової стиглості визначали інтенсивність видимого фотосинтезу прапорцевих листків, вміст у них хлорофілу та загального азоту. Вміст суми хлорофілів визначали шляхом екстракції пігментів із наважки рослинного матеріалу диметилсульфоксидом з наступним вимірюванням коефіцієнтів екстинкції отриманих розчинів на спектрофотометрі та розраховували за формулами Вельбурна [7]. Вміст загального азоту у сухій речовині визначали за Починком [8].

Інтенсивність фотосинтезу реєстрували за контрольованих умов на установці, змонтованій на базі оптико-акустичного інфрачервоного газоаналізатора ГІАМ-5 М. Невідокремлені від рослин листки розміщували у термостатованій (+25 °C) камері та освітлювали лампою розжарювання КГ-2000 через водяний фільтр. Через камеру продували атмосферне повітря зі швидкістю 1 л/х в. Інтенсивність фотосинтезу вимірювали за різної освітленості (від 500 до 50 Вт/м² ФАР), починаючи із самої високої. Розрахунки показників газообміну проводили згідно зі стандартними методиками [9].

Експериментальні дані оброблені статистично. В таблиці і на рисунку наведено середньоарифметичні значення та їх стандартні похибки.

Результати та обговорення

На високому фоні мінерального живлення вміст хлорофілу в листках високоінтенсивних сортів був суттєво більшим, ніж у старого сорту (таблиця), тоді як між рослинами сортів Фаворитка і Смуглянка різниці практично не було. Зниження рівня мінерального живлення у 5 разів призвело до зменшення вмісту хлорофілу приблизно на 40 %, при цьому між сортами спостерігалось таке ж співвідношення, як і за високого рівня.

За вмістом азоту в листках рослини сорту Миронівська 808 також відставали від високоінтенсивних сортів, однак між останніми спостерігалась різниця за цим показником — у Фаворитки він був помітно вищий, ніж у Смуглянки (див. табл.). Вміст азоту в листках рослин за нестачі мінерального живлення, як і очікувалось, був нижчим порівняно із рослинами на високому азотному фоні, однак характер відмінностей між сортами зберігся. Очевидно, рослини сорту Фаворитка здатні ефективніше поглинати азот із ґрунту, навіть за його низького вмісту, і підтримувати азотний статус фотосинтетичного апарату на вищому рівні, ніж сорти Смуглянка і, особливо, Миронівська 808, яка мала найгірші показники. У фазу молочно-воскової стиглості вміст азоту в листках зменшився, очевидно внаслідок початку процесів його реутилізації [3], проте співвідношення між сортами не змінилось.

Відповідно до вмісту азоту, інтенсивність фотосинтезу прапорцевих листків рослин сорту Фаворитка за високого рівня мінерального живлення була найбільшою, а сорту Миронівська 808 — найменшою (рисунок). Рослини сорту Смуглянка за цим показником займали проміжне положення. Такий розподіл між сортами був характерним для всіх рівнів освітленості та досліджених фаз вегетації на фоні зменшення інтенсивності фотосинтезу протягом наливу зерна внаслідок старіння листків. Однак слід відзначити, що у Фаворитки і Смуглянки цей процес відбувався повільніше, ніж у Миронівської 808. За високої освітленості різниця між сортами

Таблиця

Вміст суми хлорофілів (мг/г) та загального азоту (%) у прапорцевих листках пшениці за різного рівня мінерального живлення

Доза внесення нітроамофоски, г/посудину	Цвітіння		Молочно-воскова стиглість	
	Хлорофіл, мг/г	Азот, %	Хлорофіл, мг/г	Азот, %
Миронівська 808				
10	2,92±0,08	3,00±0,12	3,19±0,07	2,45±0,08
2	1,74±0,02	1,12±0,05	1,40±0,04	0,80±0,02
Смуглянка				
10	3,43±0,13	3,49±0,14	4,17±0,03	3,04±0,10
2	2,05±0,06	1,86±0,07	1,87±0,26	1,19±0,06
Фаворитка				
10	3,61±0,02	3,70±0,11	4,00±0,11	2,93±0,09
2	2,03±0,06	2,32±0,09	1,71±0,07	1,66±0,05

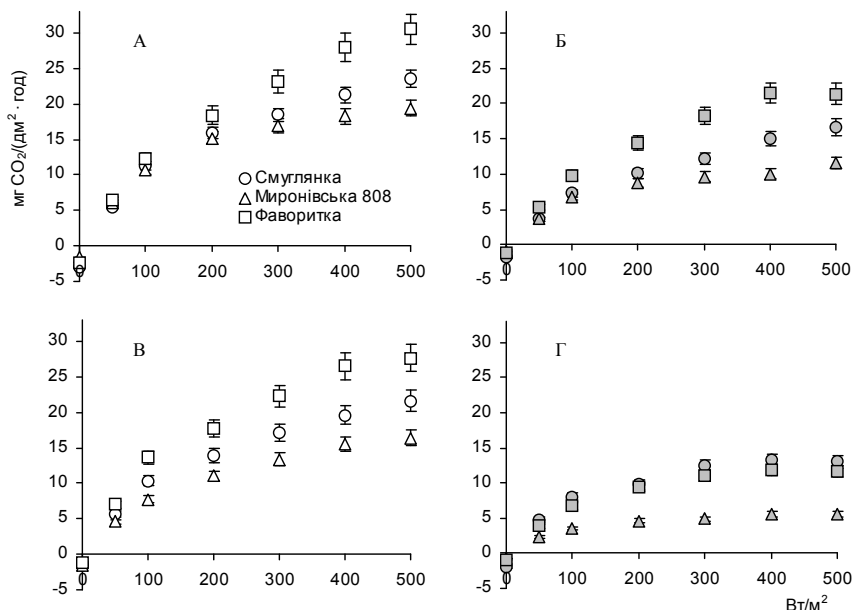


Рис. Світлові криві інтенсивності фотосинтезу прапорцевих листків рослин озимої пшениці різних сортів за високого (нітроамофоска 10 г/посудину) і низького (2 г/посудину) рівнів мінерального живлення:

А — фаза цвітіння, високий рівень; Б — фаза цвітіння, низький рівень; В — фаза молочно-воскової стиглості, високий рівень; Г — фаза молочно-воскової стиглості, низький рівень

за інтенсивністю фотосинтезу прапорцевих листків була більшою із тенденцією до виходу на насичення, яка чіткіше проявлялася у рослин сорту Миронівська 808.

За низького рівня азотного живлення інтенсивність фотосинтезу прапорцевих листків рослин усіх досліджених сортів була на 30–50% меншою, ніж за високого фону мінерального живлення. Але розподіл сортів за цим показником залишався таким самим, як і за високого рівня: найвищою інтенсивність фотосинтезу була у рослин сорту Фаворитка, найнижчою — у сорту Миронівська 808. Слід відмітити, що за дефіциту азоту фотосинтез рослин сорту Миронівська 808 зменшився набагато сильніше порівняно із високим фоном мінерального живлення, ніж Смуглянки і, особливо, Фаворитки. Так, у фазу цвітіння це падіння у Миронівської 808 за насичуючої освітленості становило 45%, тоді як у Фаворитки і Смуглянки — близько 30%. Із досяганням зерна різниця між рослинами одного сорту на високому і низькому фоні мінерального живлення поглиблювалась і за молочно-воскової стиглості становила відповідно 66, 57 і 40%. Очевидно, це

пов'язано зі згаданою вище реутилізацією азоту із листків до зерна. Рослини на високому фоні азотного живлення були спроможні краще забезпечити цим елементом потреби як фотосинтетичного апарату, так і зернівок, що ростуть.

Ще однією особливістю листків рослин на низькому фоні мінерального живлення був раніший вихід світлових кривих їх фотосинтезу на насичення порівняно із рослинами на високому фоні. Особливо це було характерним для Миронівської 808, фотосинтез листків якої при підвищенні освітленості понад 200 Вт/м^2 практично вже не збільшувався, тоді як у Смуглянки і Фаворитки цей показник ще зростав, хоча і повільніше, ніж у рослин на високому фоні мінерального живлення. У фазу молочно-воскової стиглості за нестачі мінерального живлення різниці за інтенсивністю фотосинтезу листків рослин сортів Фаворитка і Смуглянка практично не було, а у Миронівської 808 цей показник був удвічі меншим від перших двох сортів.

Все це свідчить, що фотосинтетичний апарат листків рослин пшениці, що ростуть на низькому фоні мінерального живлення, і в першу чергу — азотного, не в змозі утилізувати світлову енергію високої інтенсивності, характерну для літнього сонячного дня ($300\text{--}500 \text{ Вт/м}^2$). Очевидно, це зумовлено в першу чергу нестачею білків-ферментів циклу Кальвіна. Менший вміст хлорофілу за дефіциту мінерального живлення, на нашу думку, був переважною причиною нижчої інтенсивності фотосинтезу листків за високої освітленості ($50\text{--}100 \text{ Вт/м}^2$).

Зернова продуктивність головного пагона рослин сортів Фаворитка і Смуглянка за високого рівня мінерального живлення практично не різнилась і суттєво перевищувала таку сорту Миронівська 808 (відповідно $1,57 \pm 0,06$, $1,64 \pm 0,07$ і $1,22 \pm 0,05$ г). За зменшення дози внесення мінеральних добрив у 5 разів зернова продуктивність Фаворитки хоча і зменшилася на 38% ($0,98 \pm 0,03$ г), але була більшою, ніж у сортів Смуглянка ($0,85 \pm 0,03$ г) і Миронівська 808 ($0,76 \pm 0,03$ г).

Висновки

Таким чином, рослини досліджених сортів пшениці різнилися за здатністю підтримувати азотний статус листків за різних умов мінерального живлення. Старий менш продуктивний сорт поступався новим високоінтенсивним сортам за цим показником. Нестача мінерального живлення призвела до суттєвого зменшення вмісту в листках азоту, хлорофілу, інтенсивності фотосинтезу та зернової продуктивності рослин. Світлові криві фотосинтезу за низького рівня азотного живлення проходили нижче та мали тенденцію до виходу на насичення за меншої інтенсивності освітлення, ніж за високого рівня, що свідчить про зниження продуктивності використання світла для асиміляції CO_2 .

Маса зерна з колоса головного пагона за високого рівня мінерального живлення у рослин сортів Смуглянка і Фаворитка різнилась неістотно і

суттєво перевищувала таку у Миронівської 808. Однак за низького фону мінерального живлення рослини сорту Фаворитка були в змозі підтримувати азотний статус листків та інтенсивність фотосинтезу на вищому рівні, ніж Смуглянка і, особливо, Миронівська 808, що забезпечило їм перевагу за зерновою продуктивністю.

Література

1. Kіrізі́й Д. А., Ша́дчина Т. М., Ста́сик О. О. та ін. Особливості фотосинтезу і продукційного процесу у високоінтенсивних генотипів озимої пшениці. — К.: Основа, 2011. — 416 с.

2. Lawlor D. W. Carbon and nitrogen assimilation in relation to yield: mechanisms are the key to understanding production systems // J. Exp. Bot. — 2002. — V. 53, N 370. — P. 773–787.

3. Feller U., Anders I., Mae T. Rubiscolytics: fate of Rubisco after its enzymatic function in a cell is terminated // J. Exp. Bot. — 2008. — V. 59, N 7. — P. 1615–1624.

4. Моргу́н В. В., Шва́рцау В. В., Кири́зий Д. А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков // Физиология и биохимия культ. растений. — 2010. — 42, № 5. — С. 371–392.

5. Murchie E., Pinto, M., Horton P. Agriculture and the new challenges for photosynthesis research // New Phytol. — 2009. — V. 181, N 3. — P. 532–552.

6. Parry M. A., Reynolds M., Salvucci M. E. et al. Raising yield potential of wheat. II. Increasing photosynthetic capacity and efficiency // J. Exp. Bot. — 2011. — V. 62, N 2. — P. 453–467.

7. Wellburn A. R. The spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution // Plant Physiol. — 1994. — V. 144. — P. 307–313.

8. Почино́к Х. Н. Методы биохимического анализа растений. — К.: Наук. думка, 1976. — 333 с.

9. *Фотосинтез и биопродуктивность: методы определения* / Под ред. Мокроносова А. Т. и Ковалева А. Г. — М.: Агропромиздат, 1989. — 460 с.

Резюме

Показано, що рослини досліджених сортів пшениці різнилися за азотним статусом листків та швидкістю виходу світлових кривих фотосинтезу на плато насичення. Старий менш продуктивний сорт поступався новим високоінтенсивним сортам за цими показниками. Найбільшими вміст азоту та інтенсивність фотосинтезу прапорцевих листків були у рослин сорту Фаворитка як за високого, так і низького рівнів мінерального живлення.

Показано, что растения изученных сортов пшеницы различались по азотному статусу листьев и скорости выхода световых кривых фотосинтеза на плато насыщения. Старый менее продуктивный сорт уступал новым высокоинтенсивным сортам по этим показателям. Наибольшими содержание азота и интенсивность фотосинтеза флаговых листьев были у растений сорта Фаворитка как на высоком, так и низком фоне минерального питания.

It was shown that plants of investigated wheat varieties differed on leaves nitrogen state and rate of attainment of saturation of assimilation light curves. Old less productive variety was worse on that indices than new high intensive varieties. Nitrogen content and net assimilation rate of flag leaves were the greatest in variety Favoritka plants as at high so at low mineral nutrition level.

КОБИЗЄВА Л. Н.

*Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН України
Україна, 61128, Харків, проспект, 142, e-mail: lubov_kobyzeva@mail.ru*

ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР ЦЕНТРУ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ РОСЛИН УКРАЇНИ ДЛЯ СТВОРЕННЯ СОРТІВ РІЗНИХ ГРУП СТИГЛОСТІ

Тривалість вегетаційного періоду сорту визначає, в більшості випадків, доцільність його широкого використання в конкретній кліматичній зоні. При будь-якому вивченні сільськогосподарських культур постає питання про тривалість вегетаційного періоду. М. І. Вавилов відзначав «вопрос про вегетационный период есть капитальным разделом селекции, ибо он неразрывно связан со многими признаками... с. 272» [1]. Тривалість вегетаційного періоду — складна кількісна ознака і складається з двох основних періодів: вегетативного — формування вегетативної сфери рослини (коріння, стебел, листя) і генеративної (суцвіть, квіток, плодів, насіння) [2–5]. Залежить вона від сорту, кліматичних умов, широти місцевості, висоти над рівнем моря.

У зернобобових культур розрізняють фази (по Ф. М. Куперман) [3]: проростання насіння, сходи, поява першої пари справжніх листків, галузіння стебла, ріст стебла у висоту, утворення суцвіть, бутонізація, цвітіння, утворення та різна ступінь стиглості бобів і насіння.

В розвитку рослин зразків гороху, сої, квасолі, нуту та сочевиці визначали наступні міжфазні періоди: «сівба — сходи», «сходи — початок цвітіння», «сходи — повне цвітіння», «початок утворення бобів», «початок достигання», «повне достигання».

Дослідження проведено протягом 1992–2010 рр. Матеріалом для досліджень були колекції п'яти зернобобових культур (гороху, сої, квасолі, нуту і сочевиці), які формуються, вивчаються та зберігаються в Національному центрі генетичних ресурсів рослин України (Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва, м. Харків). Вивчення колекційних зразків зернобобових культур проводили згідно «Методических указаний ВИР по изучению зернобобовых культур» [6]. Польове вивчення проводили на полі сівозміни № 1. Трирічне вивчення колекційного зразка, яке включає морфологічний опис, оцінку господарських ознак, вивчення біологічних особливостей розвитку рослин за результатами фенологічних спостережень. Сівбу проводили в оптимальні строки для кожної культури ручними сівалками без повторень. Схема сівби: 15×10 см (горох, сочевиця), 30×10 см (соя, квасоля, нут), облікова площа — 1 м². Блок стандартів розташовували через 20 номерів колекційних зразків, який складався з національних стандартів, затверджених Державною комісією по сортовипробуванню.

Класифікація колекційних зразків гороху, сої, квасолі, нуту та сочевиці за групами стиглості показала, що зібране різноманіття досить широ-

ко відображає поліморфізм культур за тривалістю вегетаційного періоду, що сприяє оперативній роботі з селекціонерами. Але слід звернути увагу на те, що більшість зразків гороху належать до середньостиглої (32,3%) та середньопізньюстиглої (34,9%), сої та квасолі — середньоранньої (36,1% та 38,5% відповідно) та середньостиглої (35,8% та 24,9% відповідно), нуту — середньостиглої (34,9%) та пізньюстиглої (33,6%), сочевиці — середньоранньої (44,9%) та середньостиглої (22,0%) груп стиглості. Незначним різноманіттям, за виключенням колекції нуту, представлені зразки скоростиглої (4,0%) та пізньюстиглої (12,5%) груп, тому в подальшій роботі необхідно нам підсилити залучення до колекцій зразки цих груп стиглості, особливо по сої (табл. 1).

Таблиця 1

Розподіл зразків гороху, сої, квасолі, нуту, та сочевиці за групами стиглості

Культура	Всього зразків	Групи стиглості									
		Скоростиглі		Середньоранні		Середньостиглі		Середньопізні		Пізньюстиглі	
		шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%	шт.	%
Горох	1390	20	2,0	369	26,6	435	31,3	485	34,9	81	5,2
Соя	1123	112	10,0	405	36,1	402	35,8	145	13,0	59	5,1
Квасоля	1126	18	1,6	433	38,5	280	24,9	212	18,8	183	16,2
Нут	842	3	0,4	113	13,4	294	34,9	149	5,8	283	33,6
Сочевиця	646	10	1,6	290	44,9	142	22,0	124	19,0	80	12,5

Для селекційної практики важливе значення має інформація не тільки про тривалість вегетаційного періоду залученого зразка до роботи, але й організація міжфазних періодів. Такий підхід розроблено в Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН України П. П. Літуном [5] та широко впроваджено в своїх дослідженнях вченими О. Л. Зозулею [7], І. А. Гур'євою [8], В. П. Коломацькою [9]. Вченими Ю. П. Алтуховим [10] та Н. Н. Моисеевым [11] встановлено два типи формування складної ознаки: перший — складові частини ознаки при їх формуванні змінюються пропорційно, другий — зміна однієї ознаки альтернативна за напрямом другій. Для класифікації колекційних зразків зернобобових культур за типами співвідношення міжфазних періодів був використаний кластерний аналіз. В кожній групі стиглості виділено три типи співвідношення міжфазних періодів: перший тип (індекс 0,79–1,0) — період «сходи — початок цвітіння» короткий, а «початок цвітіння — повне досягання» — довгий; другий (індекс 1,01–1,31) — період «сходи — початок цвітіння» дорівнює періоду «початок цвітіння — повне досягання»; третій (середнє значення індексу 1,31–1,90) період «сходи — початок цвітіння» довгий, а «початок цвітіння — повне досягання» короткий. Нами встановлено, що у зразків гороху переважає другий тип формування тривалості вегетаційного періоду, зразків сої, квасолі, нуту та сочевиці — перший (табл. 2).

Таблиця 2

Групування колекційних зразків гороху за типом співвідношення міжфазних періодів

Група стиглості	Всього зразків, шт.	Кількість зразків з індексом співвідношення міжфазних періодів, шт.		
		I	II	III
		0,79–1,0	1,01–1,31	1,32–1,90
Горох				
Скоростиглі	20	12	7	1
Середньоскоростиглі	369	130	202	37
Середньостиглі	435	160	221	54
Середньопізні	485	213	242	30
Пізньостиглі	81	39	31	11
Всього	1390	554	703	133
Соя				
Ультраскоростиглі	115	64	45	6
Скоростиглі	345	200	119	26
Середньостиглі	337	188	134	16
Пізньостиглі	114	65	42	6
Всього	911	517	340	54
Квасоля				
Скоростиглі	18	17	1	–
Середньоранні	433	374	55	4
Середньостиглі	280	225	52	3
Середньопізні	212	191	21	-
Пізньостиглі	183	172	10	1
Всього	1126	979	139	8
Нут				
Скоростиглі	3	3	-	-
Середньоранні	102	100	2	-
Середньостиглі	293	288	5	-
Середньопізні	154	142	12	-
Пізньостиглі	285	284	1	-
Всього	837	817	20	-
Сочевиця				
Скоростиглі	10	9	1	-
Середньоранні	290	248	39	3
Середньостиглі	142	69	63	10
Середньопізні	124	61	45	18
Пізньостиглі	80	40	34	6
Всього	646	427	182	37

Встановлено, що більшість колекційних зразків сої (36,1%), квасолі (38,5%) та сочевиці (44,9%) — середньоранні; гороху (31,3%) — середньопізні; нуту (33,6%) — пізньостиглі.

Встановлено індекси структури тривалості вегетаційного періоду зразків генофонду гороху, сої, квасолі, нуту, сочевиці. Показано, що більшість зразків генофонду гороху формували вегетаційний період за другим типом

зі співвідношенням міжфазних періодів «сходи — початок цвітіння» та «початок цвітіння — повне досягання» (індекс структури знаходиться в межах 1,01–1,31); сої, квасолі, нуту та сочевиці — перший тип (індекс структури знаходиться в межах 0,79–1,0), тобто період «сходи — початок цвітіння» короткий, а «початок цвітіння — повне досягання» — довгий, що дає підстави для ствердження щодо широкого кола можливостей комбінацій при доборі вихідного матеріалу для створення сортів зернобобових культур з різним типом організації тривалості вегетаційного періоду.

Література

1. *Вавилов Н. И.* Проблемы происхождения, географии, генетики, селекции растений, растениеводства и агрономии: избранные труды в 5 тт. / Н. И. Вавилов. — М.-Л., 1965. — Т. 5. — С. 272–273.
2. *Батыгин Н. Ф.* Онтогенез высших растений / Н. Ф. Батыгин. — М.: Агропромиздат, 1986. — 100 с.
3. *Куперман Ф. М.* Морфофизиология растений. — М.: Высш. школа, 1973. — 256 с.
4. *How A.* Soybean Plant Develops: Special Report. — 1994. — No. 53 [Електронний ресурс].
5. *Литун П. П.* Решение задач селекции на базе эколого-генетической модели количественных признаков / П. П. Литун, А. Л. Зозуля, В. А. Драгавцев // Селекция и семеноводство: межвед. темат. науч. сб. — К.: Урожай, 1986. — Вып. 61. — С. 3–13.
6. Методические указания ВИР по изучению зернобобовых культур; состав. Н. И. Корсаков, О. П. Адамова, В. И. Буданова [и др.]; под ред. д-ра с.-х. наук Н. И. Корсакова. — Л., 1975. — 40 с.
7. *Литун П. П.* Генетическая организация признака и прогнозирование гетерозиса / П. П. Литун, А. Л. Зозуля // Там само. — К.: Урожай, 1987. — Вып. 63. — С. 16–23.
8. *Гур'єва І. А.* Генетичні ресурси кукурудзи в Україні / Гур'єва І. А., Рябчун В. К. / УААН, Ін-т рослинництва ім. В. Я. Юр'єва, НЦГРРУ. — Х., 2007. — 392 с.
9. *Коломацька В. П.* Закономірності формування і мінливості вегетаційного періоду у самозапильних ліній кукурудзи: автореф. дис. на здоб. наук. ступен. канд. с.-г. наук: 06.01.05 / В. П. Коломацька. — Х., 2004. — 20 с.
10. *Алтухов Ю. П.* Генетические процессы в популяциях / Ю. П. Алтухов. — М.: Наука, 1989. — 328 с.
11. *Моисеев Н. Н.* Алгоритмы развития / Н. Н. Моисеев. — М.: Наука, 1987. — 203 с.

Резюме

Сформований генетичний банк в Україні зернобобових культур (горох, соя, квасоля, нут, сочевиця) систематизовано за групами стиглості, організацією його міжфазних періодів та виявлено значний поліморфізм зразків за тривалістю вегетаційного періоду, що розкриває перспективність широкого його використання в селекційній практиці при створенні сортів різних груп стиглості.

Сформированный в Украине генетический банк зернобобовых культур (горох, соя, фасоль, нут, чечевица) систематизирован по группам спелости, организацией его межфазных периодов, установлено значительный полиморфизм образцов

по признаку продолжительность вегетационного периода, что открывает перспективность широкого его использования в селекционной практике при создании сортов разных групп спелости.

In Ukraine the genebank of grain-leguminous crops (peas, soybeans, kidney beans, chick-pea, lentil) is formed and systematized according to maturity groups, its inter-phase periods, a significant polymorphism in its specimens as to a vegetative period that shows its long-term use in breeding practice at the development of the cultivars of different maturity groups.

КОЗУБ Н.А.^{1,2}, СОЗИНОВ И.А.¹, СОЗИНОВ А.А.^{1,2}

¹ Институт защиты растений НААН,

Украина, 03022, Киев, ул. Васильковская, 33, e-mail: sia1@i.com.ua

² ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины»,

Украина, 04123, г. Киев, ул. Осиповского, 2 а

РАЗНООБРАЗИЕ КРЫМСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ДИКОГО СОРОДИЧА ПШЕНИЦЫ *AEGILOPS BIUNCIALIS* VIS. ПО ЛОКУСАМ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ

Дикие сородичи пшеницы, в частности виды эгилопсов, являются важным источником генов устойчивости к болезням и вредителям, к абиотическим факторам, а также генов, определяющих качество зерна (содержание белка в зерне, хлебопекарное качество, твердозерность). В Украине произрастают следующие виды эгилопсов — *Aegilops biuncialis*, *Ae. cylindrica*, *Ae. triuncialis*, *Ae. geniculata*, по некоторым данным — *Ae. neglecta*. Эти виды встречаются в Крыму, а *Ae. cylindrica* также широко распространен в южной Степи и Приазовье [1–3].

Ae. biuncialis Vis. (синонимы *Ae. lorentii* Hochst., *Ae. macrochaeta* Schuttl. et Huet, *T. lorentii* (Hochst), *T. macrochaetum* (Schuttl. et Huet) K. Richt, *T. biunciale* K. Richt) относится к видам эгилопсов с широким ареалом. Он распространен в Южной Европе, в Крыму, на Кавказе, в дуге плодородного Полумесяца, встречается в Северной Африке [1–3]. Его геномная формула — UUM^bM^b ($2n=28$), геном U происходит от вида *Ae. umbellulata*, модифицированный геном M^b — родственен геному M *Ae. comosa* [1, 3]. Плазмон у *Ae. biuncialis* происходит от *Ae. umbellulata* [1]. *Ae. biuncialis* характеризуется адаптацией к широкому спектру климатических условий [4], значительным разнообразием как по реакции на абиотические и биотические факторы [5], высоким уровнем генетического разнообразия, выявляемого с помощью молекулярно-генетических маркеров [6].

Использование молекулярно-генетических маркеров позволяет оценить разнообразие генетических ресурсов вида и проводить мониторинг популяций. У пшеницы и ее сородичей удобной маркерной системой могут быть локусы запасных белков. Локусы, кодирующие запасные белки семян пшеницы, хорошо изучены. Глиадины мягкой пшеницы (*T. aestivum* L.,

2n=6x=42, AABBDD) и ее сородичей контролируются основными локусами *Gli-1* и *Gli-2*, расположенными дистально на коротких плечах хромосом 1 и 6 гомеологических групп [7]. Эти локусы высокополиморфны, содержат кластеры генов, кодирующих синтез ряда компонентов (до 9), которые наследуются как единый блок. Локусы *Gli-1*, кодирующие γ - и ω -глиадины, тесно сцеплены с локусами низкомолекулярных субъединиц глютеинов (*Glu-3*), которые в значительной степени определяют хлебопекарное качество [7]. Локусы, кодирующие высокомолекулярные (HMW) субъединицы глютеинов (*Glu-1*), также непосредственно определяющие хлебопекарные свойства, находятся на длинных плечах хромосом 1 гомеологической группы и характеризуются множественным аллелизмом.

Нами проведена идентификация аллелей глиадинкодирующих локусов *Gli-U1* и *Gli-M^b1* и локусов HMW субъединиц глютеинов *Glu-U1* и *Glu-M^b1* у образцов *Ae. biuncialis*, происходящих из Крыма, и составлен их каталог [8, 9]. Среди коллекции образцов обнаружено значительное разнообразие аллелей по этим локусам (14 по *Gli-U1*, 12 по *Gli-M^b1*, 8 по *Glu-U1*, 10 по *Glu-M^b1*).

Цель данной работы — исследование разнообразия популяций *Ae. biuncialis* Крыма по локусам запасных белков *Gli-U1*, *Gli-M^b1*, *Glu-U1*, *Glu-M^b1*.

Материалы и методы

Материалом исследования служили образцы *Ae. biuncialis*, собранные в разных местностях Крыма: восточное побережье — Кара-Даг (популяции 1–3), Эчки-Даг (популяция 4), южное побережье — мыс Мартыан (популяции 5, 6), западное побережье — Береговое, Бахчисарайского р-на (популяция 7). Географические координаты мест сбора образцов большинства популяций определяли с помощью GPS. С отдельного колоса *Ae. biuncialis* для анализа брали одну зерновку. Проанализированная выборка из популяций составляла от 46 до 89 зерен (колосьев). Электрофорез проламинов проводили в кислой среде в полиакриламидном геле [10], электрофорез HMW субъединиц глютеинов — по методике Laemmli в 10 % разделяющем геле. Каждая электрофореграмма в качестве стандарта для сравнения разных гелей и идентификации аллелей содержала спектры сорта мягкой пшеницы Безостая 1 и образцов *Ae. biuncialis* с ранее идентифицированными аллелями. Аллели по локусам запасных белков идентифицировали по каталогам [8, 9]. Для оценки популяционно-генетических параметров и построения дендрограммы использовали программу POPGENE v. 1.31 [11].

Результаты и обсуждение

С помощью сравнения со спектрами образцов с ранее идентифицированными аллелями определены генотипы по локусам глиадинов 1 гомеологической группы *Gli-U1*, *Gli-M^b1* и HMW субъединиц глютеинов *Glu-U1*, *Glu-M^b1* образцов выборок с разных популяций Крыма. Большинство аллелей были сходны с ранее идентифицированными в коллекции образцов

[8, 9], которая включала также образцы с Кара-Дага и мыса Мартыян, однако в ряде случаев встречались новые аллели, временно обозначенные q , r , t по локусу *Gli-U1*, t по локусу *Gli-M^bI*, i по локусу *Glu-U1*, k , l , m , n по локусу *Glu-M^bI*.

Для суммарной группы популяций p1–7 *Ae. biuncialis* с разных регионов Крыма наибольшее число аллелей идентифицировано по локусу *Gli-U1* (15), наименьшее — по локусу *Glu-U1* (8) (табл. 1). Доминирующими аллелями в общей группе популяций являются *Gli-U1a*, *Gli-M^bIa*, *Gli-M^bI_d*, *Glu-U1b*, *Glu-M^bIa*.

Таблица 1

Показатели генного разнообразия в группе крымских популяций p1–p7 *Ae. biuncialis* (объем выборки $N = 533$) и коэффициент генной дифференциации по Nei (G_{ST})

Локус	n_a	n_e	H	IS	G_{ST}
<i>Gli-U1</i>	15	4,396	0,773	1,861	0,081
<i>Gli-M^bI</i>	11	6,604	0,783	1,837	0,156
<i>Glu-U1</i>	8	2,051	0,512	1,081	0,324
<i>Glu-M^bI</i>	12	2,647	0,622	1,411	0,235
Среднее	11,5	3,425	0,673	1,548	0,182

Здесь и в табл. 2 n_a — фактическое число аллелей, n_e — эффективное число аллелей, H — генное разнообразие по Nei, IS — информационный индекс Шеннона.

Таблица 2

Генное разнообразие, доминирующие аллели и число аллелей по локусам запасных белков в группах крымских популяций *Ae. biuncialis*

Локус	Популяции 1–4 (Кара-Даг, Эчки-Даг) ($N = 269$)			Популяции 5,6 (мыс Мартыян) ($N = 176$)			Популяция 7 (Береговое) ($N = 88$)		
	Доминирующие аллели	H	n_a	Доминирующие аллели	H	n_a	Доминирующие аллели	H	n_a
<i>Gli-U1</i>	<i>a</i>	0,732	11	<i>a, b</i>	0,624	5	<i>i</i>	0,773	8
<i>Gli-M^bI</i>	<i>a, d</i>	0,622	7	<i>a, j, d</i>	0,692	5	<i>c, l, g</i>	0,718	6
<i>Glu-U1</i>	<i>b</i>	0,180	4	<i>b, c</i>	0,463	2	<i>c</i>	0,693	6
<i>Glu-M^bI</i>	<i>a</i>	0,365	8	<i>a, b</i>	0,572	3	<i>m</i>	0,574	7
Среднее		0,475	7,5		0,588	3,75		0,689	6,75

Группы популяций, объединенные по географической близости, отличаются по доминирующим аллелям некоторых локусов (табл. 2). Если группы популяций восточного и южного побережья (Кара-Дага, Эчки-Дага и мыса Мартыян) имеют преимущественно сходные доминирующие аллели, то в популяции с западного побережья Крыма (Береговое) по локусам *Gli-U1*, *Gli-M^bI*, *Glu-M^bI* доминируют аллели, не встречающиеся или редкие в других проанализированных популяциях.

Величины генного разнообразия по Nei по исследуемым локусам в общей группе крымских популяций достаточно высоки — от 0,512 до 0,783. Средний показатель разнообразия по Nei по всем локусам — 0,673. Уровень внутрипопуляционного разнообразия значительно превышает уровень межпопуляционной вариации, о чем свидетельствует коэффициент генетической дифференциации по Nei (среднее значение для 4 локусов — 0,182). Коэффициенты генетической дифференциации выше по локусам HMW субъединиц глютеинов — доля отличий популяций по аллелям локуса *Glu-U1* составляет 32,4%, по аллелям локуса *Glu-M^b1*—23,5%, тогда как по глиадиновым аллелям — 15,6% для локуса *Gli-M^b1* и всего 8,1% по *Gli-U1* (табл. 1).

На основании частот аллелей по локусам запасных белков определены генетическое сходство популяций по Nei, генетические расстояния между популяциями и построена дендрограмма популяций *Ae. biuncialis* (рисунк).

Популяция из Берегового (p7) наиболее удалена от остальных популяций и формирует отдельный кластер. Популяция мыса Мартьян p6 генетически достаточно близка к популяциям Кара-Дага и Ечки-Дага. Более удаленной является популяция p5 из мыса Мартьян, что, возможно, обусловлено ее пространственной изоляцией. Распределение популяций по генетическим расстояниям четко отображает их географическое расположение. Это указывает на то, что полиморфизм по локусам запасных белков хромосом 1 гомеологической группы позволяет дифференцировать популяции *Ae. biuncialis* в соответствии с их географическим положением.

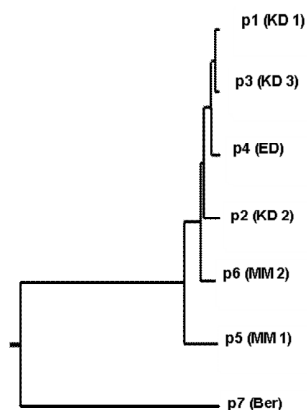


Рис. Дендрограмма популяций *Ae. biuncialis* Крыма, построенная UPGMA-методом на основе генетических расстояний по Nei по генотипам по локусам запасных белков

Таким образом, запасные белки являются удобными молекулярно-генетическими маркерами для исследования разнообразия и состояния генетических ресурсов природных популяций дикого сородича пшеницы *Ae. biuncialis*, а сам вид, благодаря его распространенности, высокому полиморфизму и генетической дифференциации, может быть индикаторным видом для оценки и контроля биоразнообразия в Крыму.

Литература

1. Kimber G., Feldman M. Wild wheat. An introduction. Special Report 353.— Columbia: College of Agriculture University of Missouri, 1987—146 p.
2. Цвелев Н. Н. Злаки СССР.— Л.: Наука, Ленингр. отд., 1976.— 788 с.
3. Богуславский Р. Л., Голик О. В. Род *Aegilops* L. как генетический ресурс селекции.— Харьков, 2004.— 236 с.
4. Zaharieva M., Prosperi J. M., Monneveux P. Ecological distribution and species diversity of *Aegilops* L. genus in Bulgaria // Biodiversity and Conservation.— 2004.— V. 13.— P. 2319–2337.
5. Yildiz M., Terzi H., Arikan E. S. Seed germination of populations of wild wheat species, *Aegilops biuncialis* and *Ae. triuncialis*: effects of salinity, temperature and photoperiod // Pakistan J. Biol. Sci.— 2006.— V. 9, N7.— P. 1299–1305.
6. Monte J. V., De Nova P. J. G., Soler C. AFLP-based analysis to study genetic variability and relationships in the Spanish species of the genus *Aegilops* // Hereditas.— 2001.— V. 135.— P. 233–238.
7. Созинов А. А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции.— М.: Наука, 1985.— 272 с.
8. Козуб Н. А., Созинов И. А., Ксинуас И. Н., Созинов А. А. Разнообразие аллелей локусов высокомолекулярных субъединиц глютеинов *Aegilops biuncialis* Vis. // Генетика.— 2011.— 47, № 9.— С. 1216–1222.
9. Козуб Н. А., Созинов И. А., Созинов А. А. Идентификация аллелей глиадиновых локусов *Gli-U1* и *Gli-M^b1* *Aegilops biuncialis* Vis. // Генетика.— 2012.— Т. 48, № 3.
10. Kozub N. A., Sozinov I. A., Sobko T. A. et al. Variation at storage protein loci in winter common wheat cultivars of the Central Forest-Steppe of Ukraine // Цитология и генетика.— 2009.— Т. 43, № 1.— С. 69–77.
11. Yeh F. C., Boyle T. J. B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits // Belgian J. of Botany.— 1997.— V. 129.— P. 157.

Резюме

Исследовано разнообразие по локусам глиадинов *Gli-U1*, *Gli-M^b1* и высокомолекулярных субъединиц глютеинов *Glu-U1*, *Glu-M^b1* семи крымских популяций дикого сородича пшеницы *Aegilops biuncialis* Vis. Средний показатель генного разнообразия по Nei — 0,673. Полиморфизм по этим локусам позволяет дифференцировать популяции *Ae. biuncialis* в соответствии с их географическим положением.

Досліджено різноманіття за локусами гліадинів *Gli-U1*, *Gli-M^b1* і високомолекулярних субодиниць глютеїнів *Glu-U1*, *Glu-M^b1* семи кримських популяцій дикого родича пшениці *Aegilops biuncialis* Vis. Середній показник генної різноманітності за Nei — 0,673. Поліморфізм за цими локусами дозволяє диференціювати популяції *Ae. biuncialis* у відповідності з їх географічним положенням.

Diversity at gliadin loci *Gli-U1*, *Gli-M^b1* and high-molecular-weight glutenin subunit loci *Glu-U1*, *Glu-M^b1* was studied in seven Crimean population of the wheat wild relative *Aegilops biuncialis* Vis. Average Nei's gene diversity is 0,673. Polymorphism at these loci permits differentiating *Ae. biuncialis* populations according to their geographical location.

КОЛОМАЦЬКА В. П., КИРИЧЕНКО В. В.

*Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН,
Україна, 61128, Харків, пр. Московський, 142,
e-mail: yuriev1908sunflower@gmail.com*

ДИФФЕРЕНЦІАЦІЯ ГІБРИДІВ СОНЯШНИКУ ЗА ЕКОЛОГІЧНОЮ ПЛАСТИЧНІСТЮ В УМОВАХ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ

Проблеми стабільності урожаю та реалізації потенційних можливостей соняшнику є основними в виробництві цієї культури. Важливе місце в досягненні поставленого результату відводиться селекції. Конкурентоспроможність гібридів соняшнику визначається багатьма факторами. Вони мають поєднувати високий потенціал урожайності, стійкість до біо- та абіотичних факторів середовища, також необхідним є високий рівень технологічності їх вирощування і якість товарного насіння [1]. Особливої уваги вимагає рівень адаптивності гібридів, від якого залежить стабільність реалізації потенціалу урожайності [2, 3, 4]. Вибір гібридів з високим адаптивним потенціалом, які забезпечують найбільш повне використання ресурсів екологічної зони, є одною із складових підвищення урожайності соняшнику в Україні [5]. Метою наших досліджень було проведення диференціації гібридів соняшнику за адаптивними властивостями, вирощування яких би забезпечувало найбільш повне використання екологічних ресурсів Лісостепу України.

В попередніх наших дослідженнях було проведено детальний аналіз екологічних ресурсів зони [6], результати якого свідчать про те, що умови східної частини Лівобережного Лісостепу України відповідають вимогам соняшнику як культури. Але ж коливання основних абіотичних факторів по роках можуть значно впливати на реалізацію генетичного потенціалу гібридів соняшнику за урожайністю. На особливу увагу заслуговують останні роки з досить екстремальними умовами впродовж вегетаційного періоду соняшнику, які характеризувались як стресовими підвищеннями температури, так і значною ґрунтовою і повітряною посухою. Саме ці контрастні умови дозволили виявити рівень адаптивності гібридів соняшнику та диференціювати їх за екологічною пластичністю.

Дослідження проведено на полях наукової сівозміни Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН в 2007–2010 рр. Роки досліджень вирізнялись за температурним режимом і рівнем вологозабезпеченості. Підвищеними температурами порівняно з багаторічними впродовж всього вегетаційного періоду соняшнику відрізнявся 2007 рік. Помірними температурами дещо нижчими за багаторічні характеризувався 2008 рік, лише в період формування насіння спостерігалось значне підвищення температури. Травень 2009 року характеризувався низькими температурами в першій і другій декадах порівняно з середньобагаторічними, що призвело до затримки періоду проростання насіння і отримання сходів соняшнику. Умови

2010 року відрізнялись аномально високими температурами в період цвітіння і формування насіння на фоні значної повітряної і ґрунтової посухи.

За динамікою опадів виділився 2007 рік, який мав помірну кількість опадів впродовж майже всього вегетаційного періоду і значну — в третій декаді червня. Нерівномірну кількість опадів впродовж вегетаційного періоду зафіксовано в 2008 році. Найбільш посушливими були 2009 і 2010 роки, особливо в другу частину вегетаційного періоду, але в 2009 році склались менш жорсткі умови в зв'язку з порівняно невисокими температурами. В цілому, погодні умови звітних років мали значні особливості впродовж вегетаційного періоду, найбільш оптимальним для росту і розвитку рослин соняшнику був 2007 рік, найбільш несприятливим — 2010 рік.

Матеріалом досліджень були 50 гібридів соняшнику різних груп стиглості: скоростиглої, ранньостиглої, середньоранньої та середньостиглої. Переважна більшість з них є промисловими гібридами провідних селекційних установ України та закордонних установ і фірм. Гібриди соняшнику вивчені за методикою проведення попереднього випробування [7]. Для аналізу результатів використовували методи варіаційного, дисперсійного та регресійного аналізів [8].

Аналіз результатів багаторічного вивчення гібридів соняшнику за урожайністю показав значні межі варіювання як в межах вибірки, так і по роках у окремих гібридів. Так, в середньому за чотири роки середній рівень урожайності знаходився на рівні 3,08 т/га, максимальний рівень — 3,82 т/га, мінімальний — 2,33 т/га (рис. 1). При цьому, урожайність гібридів по роках коливалась в різному ступені.

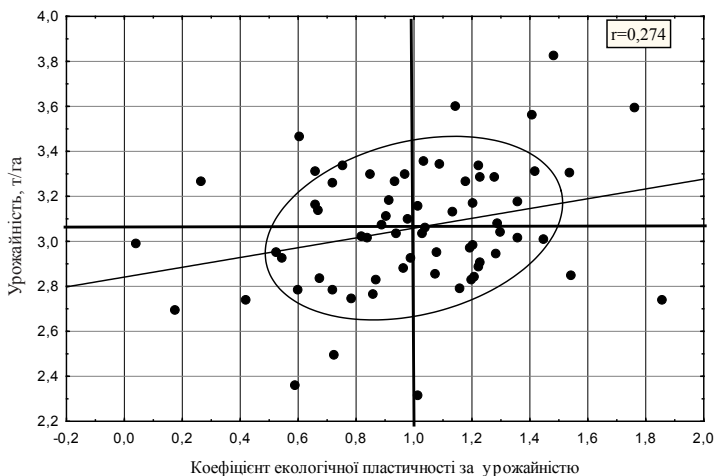


Рис. 1. Розподіл гібридів соняшнику за рівнем (середнє 2007–2010 рр.) та екологічною пластичністю урожайності

Визначені коефіцієнти екологічної пластичності вказують на досить різний характер реакції гібридів на зміну умов року. Так, найменше значення коефіцієнта — 0,02, найбільше — 1,83. Коефіцієнт екологічної пластичності, що наближається до одиниці мала значна кількість вивчених гібридів. Ці гібриди мають оптимальну реакцію на умови року, урожайність у них коливається в незначних межах в залежності від комфортності умов. За межами зони, окресленої еліпсом, знаходяться гібриди, для яких характерна якісна зміна реалізації генетичного потенціалу при різних сполученнях абіотичних факторів. Серед них — гібриди з різним рівнем урожайності, особливу увагу заслуговують гібриди з високим рівнем урожайності за чотири роки вивчення.

Так, урожайність вищу за 3,4 т/га мали п'ять гібридів, з яких коефіцієнт екологічної пластичності $1 \pm \sigma$ мали 3 гібриди, 2 гібриди мали коефіцієнт екологічної пластичності $>1,4$. Урожайність двох останніх гібридів коливається по роках в значних межах, але при цьому її рівень залишається на порівняно високому рівні. Для гібридів, що входить до зони «адаптивної норми» правомірним є ствердження про їх високий адаптивний потенціал до умов випробування, але не всі з них за генетичним потенціалом є конкурентоспроможними.

Нами було проаналізовано особливості реакції високоурожайних гібридів селекції Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва на різні умови (табл. 1). Серед них є гібриди, що занесені до Реєстру сортів, а також перспективні селекційні комбінації. Так, майже всі гібриди найвищий рівень урожайності сформували в 2007 році, який найбільшою мірою наближався до оптимальних умов серед років досліджень. Винятковою реакцією на ці умови відрізнялась гібридна комбінація Сх 2122 А/Х 114 В, урожайність якої була найвищою в 2008 році при порівняно низьких температурах і нерівномірній кількості опадів. Найнижчий рівень урожайності відмічено у всіх гібридів в 2010 році.

Схожий характер реакції на умови були у гібридів Кий, Квін, Раут, Максимус та перспективної комбінації Сх 908 А/Х 526 В. Ці гібриди здатні використовувати умови з оптимальним поєднанням абіотичних факторів: урожайність становить 4,0–5,0 т/га, в стресові роки демонструють урожайність на рівні 2,0–2,5 т/га. Враховуючи те, що в 2010 році склались досить складні умови з стресовими коливаннями температурного режиму і вологозабезпеченості на протязі всього вегетаційного періоду, можна стверджувати про високий рівень адаптивності цих гібридів.

Дещо по іншому реагували на умови року гібриди Еней, Борей та комбінація Сх 503 А/Х 843 В, для яких посушливі умови 2009 року виявились більш комфортними в порівнянні з 2008 роком, умови якого характеризувались зниженням температури в порівнянні з середньою багаторічною.

Екологічна пластичність всіх представлених в таблиці 1 гібридів, за винятком гібридів Квін, Борей і комбінації Сх 908 А/Х 526 В знаходиться

Таблиця 1

Порівняльна характеристика гібридів соняшнику за урожайністю та екологічною пластичністю (2007–2010 рр.)

Група	Гібрид	Урожайність, т/га					Коефіцієнт екологічної пластичності, b
		2007 р.	2008 р.	2009 р.	2010 р.	середнє	
скоро-стигла	Cx 908 A x X 526 B	4,17	3,94	3,64	2,57	3,58	1,48
	Київ st	3,87	3,16	2,95	2,32	3,08	0,89
раньостигла	Cx 2122 A x X 114 B	3,71	4,07	3,33	2,26	3,34	1,09
	Еней	4,04	3,31	3,60	2,12	3,27	1,18
	Борей	4,61	3,81	4,12	1,95	3,62	1,26
	Оскіл st	3,83	3,13	2,76	2,37	3,02	0,82
середньоранна	Cx 503 A x X 843 B	4,18	3,28	3,75	2,15	3,34	1,22
	Квін	4,17	3,46	2,70	2,00	3,08	0,87
	Раут	4,26	3,42	3,29	2,46	3,36	1,03
	Максимус	4,33	3,48	3,17	2,17	3,29	1,28
	Дарій st	3,91	3,39	3,23	2,01	3,14	0,86
НІР_{0,05}		0,33	0,29	0,33	0,30		

в межах оптимальної (1 ± 0). У цих трьох гібридів коефіцієнти екологічної пластичності мають значення, які свідчать про високий рівень коливання урожайності по роках.

Але ж, враховуючи рівень урожайності, як в середньому за роки випробувань, так і в несприятливі роки, вони є конкурентоспроможними і за-слуговують на увагу виробників. Таким чином, високий рівень адаптивності до умов Лісостепу України мають гібриди різних типів: типовими представниками першого є Київ, Квін, Раут, Максимус; другого — Квін, Борей. Стабільно високий рівень врожайності забезпечують гібриди обох типів завдяки високому порогу реагування на зміну температурного режиму і вологозабезпеченості, що є особливо важливим в роки з різними їх коливаннями.

Таким чином, при виборі гібрида для конкретної зони вирощування слід враховувати його генетичний потенціал, а також рівень адаптивності до екологічних умов. Для селекційної роботи важливим моментом слід вважати аналіз особливостей гібрида щодо специфічності реакції на окремі абіотичні фактори та їх сполучення.

Література

1. *Виробництво соняшнику в Україні: стан і перспективи* / В.В. Кириченко, В.П. Коломацька, К.М. Макляк, В.І. Сивенко // Вісник ЦНЗ АПВ Харківської області. — 2010. — Вип. 7 — С. 281–287.

2. Кириченко В. В. Селекція і семеноводство підсолнечника (*Helianthus annuus* L.) / В. В. Кириченко. — Харків, 2005. — 385 с.

3. Жученко А. А. Возможности создания сортов и гибридов растений с учетом изменения климата / А. А. Жученко // Стратегия адаптивной селекции полевых культур в связи с глобальным изменением климата. Сб. научн. тр. междунар. научн.-практ. конференции. — Саратов, 2004. — С. 10–16.

4. Кильчевский А. В. Эколого-генетические аспекты селекции растений / А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Молекулярная и прикладная генетика. — Минск, 2009. — Т. 9. — С. 14–18.

5. Адаптивна селекція. Теорія і технологія на сучасному етапі / П. П. Литун, В. В. Кириченко, В. П. Петренкова, В. П. Коломацька. — Харків, Інститут растениеводства ім. В. Я. Юр'єва, 2007. — 263 с.

6. Кириченко В. В. Перспективи гетерозисної селекції соняшнику, орієнтованої на екологічні умови Лісостепу України / В. В. Кириченко, В. П. Коломацька // Селекція і насінництво. — 2006. Вип. 93. — С. 20–31.

7. Литун П. П. Методика полевого селекционного опыта / П. П. Литун, Н. В. Проскурнин, Т. И. Гопчий. — Харків: ХСГУ, 1996. — 271 с.

8. Системний аналіз в селекції польових культур / П. П. Литун, В. В. Кириченко, В. П. Петренкова, В. П. Коломацька. — Х.: Інститут рослинництва ім. В. Я. Юр'єва УАН, 2009. — 354 с.

Резюме

За результатами багаторічного вивчення проведена диференціація гібридів за адаптивними властивостями до умов східної частини Лісостепу України. Визначено типи гібридів з оптимальною реакцією на екологічні умови, виділено найкращі, з високим рівнем урожайності.

По результатам многолетнего изучения проведена дифференциация гибридов подсолнечника по адаптивной способности к условиям восточной части Лесостепи Украины. Определены типы гибридов с оптимальной реакцией на экологические условия, выделены лучшие, с высоким уровнем урожайности.

In accord with the many-year study results the differentiation of sunflower hybrids for adaptability to the conditions of the eastern part of the Forest-Steppe of Ukraine has been conducted. The types of hybrids with an optimal response to ecological conditions have been determined; the best ones with a high level of grain yield have been selected.

КОРНЄЄВА М.О., МАЦУК М.Б., ЧЕМЕРИС Л.М.

Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України

03141, м.Київ, вул.Клінічна, 25, e-mail: mira31@ukr.net, masinjka2008@rambler.ru

КОМБІНАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ТЕТРАПЛІДНИХ ЗАПИЛЮВАЧІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ БІЛОЦЕРКІВСЬКОЇ ГЕНПЛАЗМИ ЗА ЕНЕРГІЄЮ ПРОРОСТАННЯ І СХОЖІСТЮ НАСІННЯ

Для вирощування цукрових буряків за біоадаптивною технологією необхідною умовою є високі посівні якості насіння, через які на початкових етапах розкривається генетично детермінований потенціал високої продуктивності гібридів [1]. Тому накладання доборів на новостворе-

ний вихідний матеріал поліплоїдних буряків за ознаками енергія проростання і схожість насіння дасть змогу продовжити вегетаційний період на кілька днів, що також є резервом підвищення продуктивності. Робота з вихідним матеріалом і різними поколіннями доборів, особливо тетраплоїдних запилювачів-компонентів гібридів, що мають високу комбінаційну здатність, є етапом на шляху до формування кінцевих (товарних) гібридів на основі диплоїдних материнських форм з цитоплазматичною чоловічою стерильністю, які відрізняються поліпшеними посівними якостями [2], адже відомо, що у гібридній селекції на основі лінійних матеріалів гарантований рівень схожості насіння залежить не лише від схожості компонентів схрещування, а й від їх взаємодії.

Комбінаційну здатність тетраплоїдних запилювачів за кількісними ознаками можна вивчити в системі контрольованих схрещувань, де тестерами можуть слугувати набір пилкостерильних ліній. Це дасть змогу цілеспрямовано підбирати батьківські пари при формуванні гібридів з високими значеннями енергії проростання і схожості насіння.

Матеріали і методика

Дослідження проводили на Білоцерківській дослідно-селекційній станції Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків у 2010–2011 рр. До схрещування за схемою топкрос було залучено 4 тетраплоїдні лінії, які раніше були стабілізовані за плоідністю. Це лінії 1007, 1009, 1012 та 1013 білоцерківської селекції. Як тестери до досліду було залучено 4 пилкостерильні форми: Тестер 1 і 2 — лінії уладівського походження під умовними номерами 1354 і 1367, Тестери 3 і 4 — лінії іванівського походження — відповідно 1382 і 1383 з високим ступенем стерильності. Посівні якості насіння визначали згідно з ДСТУ 2292–93 [3].

Результати та обговорення

Як показали дослідження, топкросні ЧС гібриди істотно відрізнялися між собою за енергією проростання. Дисперсійний аналіз даних показав, що $F_{\text{факт}} = 26,9 > F_{\text{теор}} = 2,01$, тобто вони обумовлені генотипом схрещуваних форм, що є умовою аналізу ліній за генетичною цінністю. Середні значення гібридних комбінацій, створених за участю тетраплоїдного запилювача 1007, були близькими до гібридів на основі запилювача 1013 і становили відповідно 68,7 та 68,1 %. Найвищий показник енергії проростання був характерним для гібридів, де лінією запилювачем слугував тетраплоїдний номер 1009–72,8 %, з коливаннями по тестерам у межах 64,3...78 % (табл. 1). Схожість топкросних ЧС гібридів, створених на основі лінії іванівського походження 1383 була найвищою і становила 73,9 % з варіюванням по конкретним комбінаціям у межах 74...76 %.

Загальна комбінаційна здатність за енергією проростання тестерів наведена у табл. 2, а тетраплоїдних ліній — на рис. 1. Достовірно високим ефектом ЗКЗ за цією ознакою характеризувався запилювач 1009 і материнські форми — тестери ЧС 1354 уладівського походження та 1383 іва-

Таблиця 1

Енергія проростання насіння топкросних гібридів, створених за участю тетраплоїдних запилювачів цукрових буряків, 2009–2011 рр.

Номер пп	Тетраплоїдні лінії запилювачі	Тестери-пилко стерильні форми				Середнє по лініям
		ЧС1354	ЧС1367	ЧС 1382	ЧС1383	
1	1007	75,0	66,0	62,0	71,7	68,7
2	1009	78,0	64,3	75,0	74,0	72,8
3	1012	70,0	73,0	60,0	74,0	69,3
4	1013	64,0	61,0	71,3	76,0	68,1
Середнє по тестерам		71,8	66,1	67,1	73,9	69,7

Таблиця 2

Специфічна комбінаційна здатність за ознакою енергія проростання насіння тетраплоїдних запилювачів і тестерів цукрових буряків, 2009–2011 рр.

Номер пп	Тетраплоїдні лінії запилювачі	Специфічна комбінаційна здатність, ефекти			
		ЧС1354	ЧС1367	ЧС 1382	ЧС1383
1	1007	4,29*	0,95	-4,04*	-1,21
2	1009	3,12*	-4,88	4,79*	-3,04*
3	1012	-1,29	7,36*	-6,63*	0,54
4	1013	-6,13*	-3,46*	5,88*	3,71*
ЗКЗ тестерів		2,04*	-3,63*	-2,63*	4,21*

Примітка. * — достовірно високі значення на 5 % рівні значущості

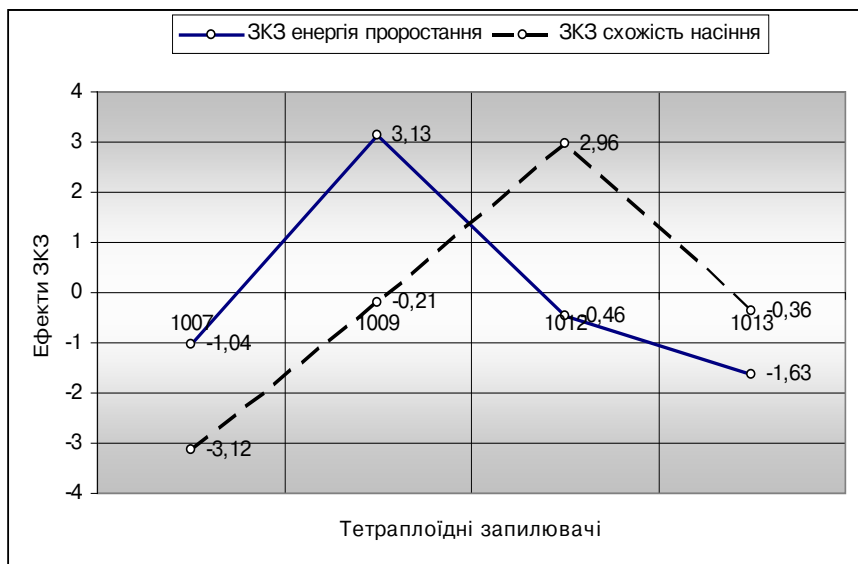


Рис. 1. Ефекти ЗКЗ тетраплоїдних запилювачів за енергією проростання та схожістю насіння

нівського походження — відповідно +3,13*, +2,04* та +4,21*. Грунтуючись на теорії генетичного балансу М. В. Турбіна, за якою гетерозисний ефект гібридів пояснюється як сумарний ефект різних, часто протилежно направлених, дій і взаємодій генів (адитивність, домінування, епістаз) [4], можна пояснити, що найвищий показник енергії проростання — 78% (табл. 1) у комбінації ЧС 1354/1009 був обумовлений як істотно високим ефектом материнської форми (+2,04*) і неадитивним ефектом (+3,12*) (табл. 2), так і достовірно високим адитивним ефектом запилювача (+3,13*) (рис. 1).

За рівних значень показника енергії проростання насіння у комбінацій ЧС 1354/1007 та ЧС 1382/1009, що становило 75%, у першому випадку він був обумовлений високою СКЗ (+4,29*) і ЗКЗ материнської форми (+2,04*), у другому — високою СКЗ (+4,79*) та високим адитивним ефектом запилювача (+3,13*). Високою адитивною дією генів за ознакою енергії проростання виділився запилювач 1009 (рис. 1). За схожістю насіння виділилася комбінація ЧС 1354/1009. Цей показник у цього гібрида був найвищим у даному наборі пробних гібридів і становив 89% (табл. 3). Гетерозис даної комбінації був обумовлений високими ефектами взаємодії (+3,21*) та позитивним адитивним впливом материнської форми (+1,96*) (табл. 4). Чотири гібрида з однаковим фенотиповим проявом схожості (на рівні 88%) (ЧС 1067/1012, ЧС1367/1013, ЧС1082/1009, ЧС1382/1012) характеризувались різним поєднанням істотно позитивних ефектів. Внесок компонентів у структуру мінливості досліджуваних ознак наведено на рис. 2.

Таблиця 3

Схожість насіння топкросних гібридів, створених за участю тетраплоїдних запилювачів цукрових буряків, 2009–2011 рр.

Номер пп	Тетраплоїдні лінії запилювачі	Тестери-пилкостерильні форми				Середнє по лініям
		ЧС1354	ЧС1367	ЧС 1382	ЧС1383	
1	1007	85,0	76,0	80,7	82,0	80,9
2	1009	89,0	74,0	88,3	84,0	83,8
3	1012	87,0	88,0	88,0	85,0	87,0
4	1013	83,0	88,0	83,0	84,0	84,4
Середнє по тестерам		86,0	81,4	83,0	84,0	84,0

Таблиця 4

Специфічна комбінаційна здатність за ознакою схожості насіння тетраплоїдних запилювачів і тестерів цукрових буряків, 2009–2011 рр.

Номер пп	Тетраплоїдні лінії за- пилювачі	Специфічна комбінаційна здатність, ефекти			
		ЧС1354	ЧС1367	ЧС 1382	ЧС1383
1	1007	2,12	2,29*	-1,21	1,37
2	1009	3,21*	-7,21*	3,54*	0,46
3	1012	-1,96	3,62*	0,04	-1,71
4	1013	-3,38*	5,87*	-2,38*	-0,13
ЗКЗ тестерів		1,96*	-2,62*	0,96	-0,29

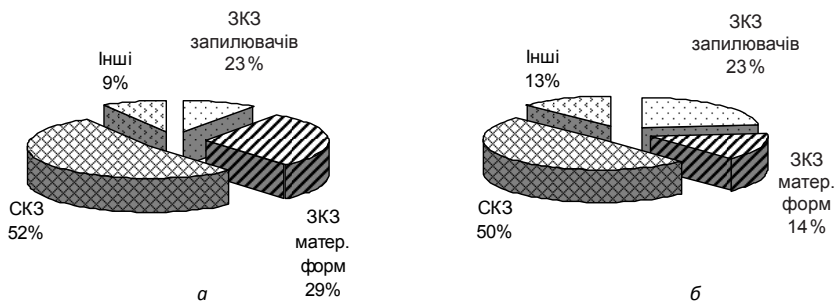


Рис. 2. Структура мінливості ознак енергія проростання (а) та схожість насіння (б)

З рис. 2 видно, що як за енергією проростання, так і за схожістю насіння неадитивні ефекти взаємодії генів були переважаючими і становили відповідно 52 і 50 %. Це свідчить про достатню гомозиготність ліній, залучених до гібридизації, і важливості підбору батьківських пар для гібридизації. Проте за схожістю насіння порівняно з енергією проростання збільшився вплив запилювачів (23 проти 10 %), проте знизився вплив адитивних генів материнського компоненту (29 проти 14 %).

Висновок

На основі аналізу експериментальних даних можна констатувати, що запилювач 1009 за енергією проростання і запилювач 1012 — за схожістю насіння володіють високою загальною комбінаційною здатністю. Визначена генетична детермінація. Генетично цінними за цими ознаками відібрано пилко стерильні материнські форми ЧСС 1354 (уладівська) та ЧС 1382 (іванівська генплазма). Переважаюча частка впливу у структурі генотипової мінливості досліджуваних ознак належить неадитивним ефектам генів. Визначена генетична детермінація фенотипового прояву енергії проростання і схожості насіння у кращих за цими ознаками експериментальних гібридів.

Література

1. *Біодаптивну* технологію вирощування цукрових буряків — на поля. Рекомендації з біодаптивної технології весняного обробітку ґрунту, сівби та догляду за посівами цукрових буряків в умовах 2011 р. Авт.колектив — Роїк М. В., Іващенко О. О., Демидов О. А. та ін.). — Цукрові буряки, № 3 (81). — 2011. — С. 8–11.
2. *Корнєєва М. О.* Селекційне покращення схожості насіння експериментальних ЧС гібридів буряка цукрового / М. О. Корнєєва, П. І. Вакуленко // Збірник наукових праць Уманського державного аграрного університету. — Умань, 2008. — № 69. — С. 62–67.
3. *Насіння цукрових буряків.* Методи визначення схожості, одноростковості та доброякісності: ДСТУ 2292-93. — [Чинний від 1996–01–01]. — К.: Держспоживстандарт України, 1996. — 12 с. (Державний стандарт України).

4. Тарутина Л. А. Взаимодействие генов при гетерозисе / Тарутина Л. А., Хотылева Л. В. — Минск: Наука и техника. — 1990. — 176 с.

Резюме

На основе топкроссных МС гибридов установлен генетический контроль признаков энергия прорастания и всхожесть семян. Определены эффекты комбинационной способности опылителей (4х) сахарной свеклы для подбора родительских пар, выделены лучшие гибриды.

На основі топкроссних ЧС гібридів встановлено генетичний контроль ознаки енергія проростання і схожість насіння. Визначено ефекти комбінаційної здатності запилювачів (4х) цукрових буряків для підбору батьківських пар, виділено кращі гібриди.

On the basis of topcross MS hybrids established genetic control of traits vigor and seed germination. To determine the effect of combining ability of pollinators (4x) of sugar beet for the selection of parental pairs are highlighted in the best hybrids.

КУЗНЕЦОВА Н.Ф.¹, МАШКИНА О.С.^{2,1}, ПАРДАЕВА Е.Ю.¹

¹ ФГУП НИИ лесной генетики и селекции

Россия, 394087, Воронеж, ул. Ломоносова, 105, e-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru

² Воронежский государственный университет,

Россия, 394006, Воронеж, Университетская площадь, д.1,

e-mail: olga_mashkina@yahoo.com

МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОНТРАСТНЫХ ПО ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ФОРМ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Засуха 2010 г. вошла в число трех наиболее жестких засух за всю историю метеонаблюдений, охватила территорию 38 субъектов РФ, стала причиной гибели лесов на площади 1,3 млн га. В последние десятилетия экологическая ситуация на территории Среднерусской лесостепи осложняется тем, что здесь все больше проявляются признаки аридного климата. Усилилась континентальность климата, возросла доля и конкурентоспособность степных сообществ в животном и растительном мире, увеличилось число засух в десятилетие, резко понизился уровень грунтовых вод и др. [1–3]. Все это требует корректировки региональной лесной политики — интенсификации работ по селекции сосны на засухоустойчивость, внедрение в лесокультурную практику засухоустойчивых форм. В настоящем сообщении приведены данные морфологического и цитогенетического исследования материнских деревьев, семенных потомств после засухи 2010 г. у контрастных по продуктивности и засухоустойчивости форм *Pinus sylvestris* L.

Материалы и методы

Исследования проводились на двух модельных объектах сосны обыкновенной: 1) «Острогжск» (Воронежская обл., Острогжское лесничество, восточная сторона насаждения выходит на автотрассу «Воронеж-Милле-

рово») — засухоустойчивое и высокопродуктивное насаждение; и 2) Ступинский тест-объект (Воронежская обл., Рамонское лесничество, граничит с Воронежским государственным заповедником и Усманским бором) — типичное по вегетативной и генеративной продуктивности насаждение. Чувствительность генеративной сферы к засухе и качество семян оценивали по 8 экологически зависимым морфометрическим и цитогенетическим признакам — обилию шишек на дереве, полнозернистости семян (%), числу семян в шишке (полные + пустые, шт.), лабораторной всхожести семян (%), частоте и спектру нарушений митоза (%), числу ядрышек в интерфазных клетках (от 1 до 12; %). Цитологические исследования проводили на давленных препаратах по общепринятой методике. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием статистического пакета программ Stadia. Сравнение выборок по патологиям митоза и частоте микроядер проводилось с использованием непараметрических критериев: X-критерия рангов Ван-дер-Вардена, так как признаки не подчиняются нормальному распределению.

Результаты и обсуждение

Особенностью засухи 2010 г. явилось то, что в течение вегетационного сезона действовало два блокирующих антициклона. Весенний менее мощный и продолжительный — первая декада мая — сдвинул начало репродуктивных процессов у сосны на более ранние сроки (пыление, оплодотворение и др.), и негативно повлиял на стадии (рост пыльцевых и формирование семяпочек в шишках 2-го года развития), развитие которых пришлось на начало мая. Во многом благодаря сдвигу и оптимальным гидротермическим условиям во II и III-ей декаде мая основные критические точки репродуктивного цикла успели пройти до начала основной засухи. Летний антициклон установился с III-ей декады июня и продолжался до конца августа. У сосны удар засухи пришелся, главным образом, на две репродуктивные стадии — конец раннего эмбриогенеза и поздний эмбриогенез, которые менее чувствительны к погодному стрессу.

Обследование Ступинского тест-объекта после засухи 2010 г. показало, что урожайность большинства деревьев существенно снизилась. Шишки сильно осмолены, часто повреждены вредителями. Полнозернистость семян в шишках упала до 68,7%. Число семян в шишке уменьшилось на 70%. Лабораторная всхожесть семян осталась на уровне оптимальных лет. Диапазон изменчивости первых двух признаков сильно «сужен» по сравнению с ранней засухой 2001, 2007 гг. В структуре шишки отмечено низкое число или отсутствие недоразвитых семян.

На Острогжском объекте более 70% деревьев характеризовались повышенной урожайностью. Шишки крупные, не осмолены. Полнозернистость семян 79,1%, число семян в шишке 25,3, лабораторная всхожесть семян 76,9%. По показателям семенной продуктивности разница с данными

оптимальных лет находится в пределах статистической ошибки. В 2011 г. также отмечен хороший урожай.

Известно, что наиболее информативными для исследований и эффективными для отбора засухоустойчивых форм являются засушливые годы. Это обусловлено тем, что экстремальные годы расширяют диапазон изменчивости всех экологически зависимых признаков, дифференцируют популяцию по степени засухоустойчивости на три группы генотипов: чувствительную, модальную и засухоустойчивую [4]. Доля контрастных форм составляет $\approx 10\%$. Дифференциация ведет к перераспределению генотипов в семенном генофонде, увеличивая в нем долю инбредных потомств и потомств от засухоустойчивых форм. Разное поведение деревьев крайних групп соответствует двум типам адаптивной стратегии — «удержание ниши» и «смена ниши» [5, 6]. Согласно концепции эколого-ценотических стратегий растения ежегодно тратят приблизительно одинаковые энергетические ресурсы на свое выживание и на репродукцию. При изменении условий обитания (засуха, заморозки, техногенно нарушенная среда и др.) происходит перераспределение затрат между генеративной и вегетативной сферой, которое может идти двумя способами. В первом случае основная часть энергетических ресурсов идет на защиту онтогенеза, а во втором, на поддержание репродуктивного усилия растения в онтогенезе.

Для подтверждения связи между типом адаптивной стратегии дерева и жизнеспособностью семенных потомств мы отобрали 12 засухоустойчивых и 14 засухоустойчивых форм и изучили у них по группам качество семян. Результаты сравнения двух показателей — полнозернистости семян и лабораторной всхожести семян приведены на рисунке 1. Оказалось, что

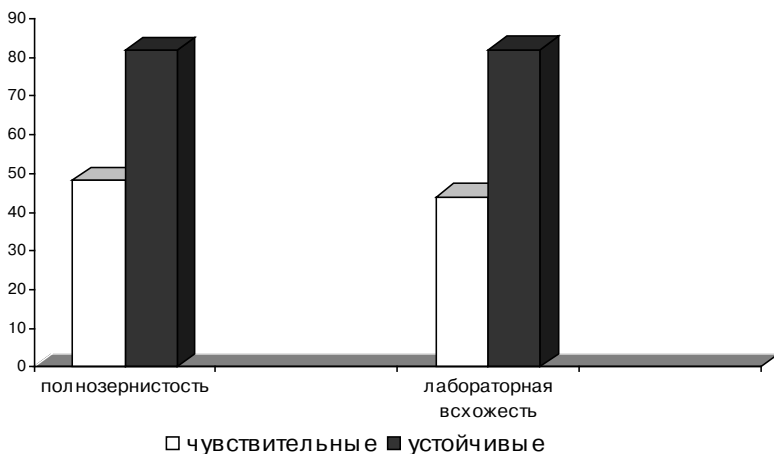


Рис. Связь между адаптивной стратегией дерева и жизнеспособностью семенных потомств у сосны обыкновенной, засуха 2010 г.

качество семян ниже на треть у деревьев засухоустойчивой группы по сравнению с засухочувствительной.

Проведена сравнительная оценка изменчивости цитогенетических показателей (частоты и спектра патологий митоза, частоты встречаемости микроядер, ядрышковой активности) на Ступинском тест-объекте и Острогжском объекте в контрастные по погодным условиям годы (2007 и 2010 гг. — засушливые и 2008 г. — оптимальный) (таблица). Установлено, что в обоих районах исследования под воздействием засухи произошло расширение диапазона изменчивости изученных цитогенетических показателей. Выявлены статистически достоверные различия между группой чувствительных и устойчивых деревьев, как в контроле, так и в опытном варианте. В группе чувствительных деревьев в аномальный год наблюдается существенное увеличение частоты и спектра ПМ, уровня микроядер, а в группе устойчивых деревьев — реакция на стресс менее выражена и неблагоприятные условия практически не отразились на их цитогенетических показателях. Семенное потомство чувствительных деревьев отличается и наибольшей вариабельностью по частоте ПМ у отдельных проростков.

Таблица

Частота патологических митозов и микроядер в семенном потомстве чувствительных и устойчивых к засухе деревьев сосны обыкновенной, произрастающих на Ступинском и Острогжском модельных объектах, 2010 г.

№ дерева — чувствительность	Патологии митоза, % $\bar{X} \pm Sx$	Пределы варьирования min-max, %	Микроядра, % $\bar{X} \pm Sx$	Пределы варьирования min-max, %	Всхожесть семян, %
46 — уст	1,1 ± 0,1	0,2–2,4	0,04±0,01	0,0–0,2	76,7
22 — уст	1,4 ± 0,1	0,5–2,4	0,04±0,01	0,0–0,2	76,7
<i>среднее</i>	<i>1,3 ± 0,1</i>	<i>0,5–2,4</i>	<i>0,04±0,01</i>	<i>0,0–0,2</i>	
012-чувств	1,3 ± 0,1	0,1–2,4	0,03±0,01	0,0–0,09	80,0
94 — чувств	2,1 ± 0,2	1,2–3,5	0,06±0,01	0,0–0,2	96,7
98 — чувств	3,0 ± 0,4	0,9–6,8	0,07±0,02	0,0–0,2	36,7
<i>среднее</i>	<i>2,1 ± 0,2***</i>	<i>0,1–6,8</i>	<i>0,05±0,01</i>	<i>0,0–0,2</i>	
общее	1,7 ± 0,1	0,1–6,8	0,05±0,01	0,0–0,2	73,4 ± 5,3
28 — уст	2,7 ± 0,1	1,8–3,8	0,07±0,01	0,0–0,2	80,0
14 — уст	2,6 ± 0,3	0,0–3,8	0,03±0,02	0,0–0,2	53,3
11 — уст	2,2 ± 0,2	0,8–3,2	0,06±0,01	0,0–0,2	96,7
27 — уст	2,9 ± 0,1	2,2–4,0	0,07±0,01	0,0–0,2	63,3
<i>среднее</i>	<i>2,6 ± 0,1</i>	<i>0,0–4,0</i>	<i>0,06±0,01</i>	<i>0,0–0,2</i>	
18 — чувств	3,5 ± 0,4	1,2–8,3	0,1±0,02	0,0–0,4	10,6
7 — чувств	3,7 ± 0,2	2,5–5,0	0,1±0,01	0,06–0,3	86,7
<i>среднее</i>	<i>3,6 ± 0,2**</i>	<i>1,4–8,3</i>	<i>0,1±0,02</i>	<i>0,0–0,4</i>	
ср. общее	2,9 ± 0,1***	0–8,3	0,08±0,01*	0,0–0,6	65,1 ± 6,8

Примечание: различия между группой чувствительных и группой устойчивых деревьев, а также различия с контролем достоверны при * P<0,05; ** P < 0,01; ***P < 0,001.

Установлено, что в потомстве деревьев, произрастающих вдоль авто-трассы, существенно возрастает частота и расширяется спектр ПМ, увеличивается уровень встречаемости микроядер по сравнению с контролем. Средняя частота патологий митоза за три года исследований (2007, 2008, 2010 гг.) составила $3,4 \pm 0,1\%$ (против $1,5 \pm 0,1\%$ на Ступинском тест-объекте), что, тем ни менее, находится в пределах нормальных значений уровня спонтанного мутирования в средней полосе России [7]. Ядрышковая активность в районе Острогожского объекта также является нормальной. Таким образом, данный модельный объект в целом оказался более устойчивым (адаптированным) по признаку семенной продуктивности и цитогенетическим показателям к влиянию засухи 2010 г. (двойной стресс), чем дерева Ступинского тест-объекта, произрастающего в оптимальных экологических условиях.

Выводы

Изучено состояние генеративной сферы материнских деревьев и семенного потомства сосны обыкновенной после засухи 2010 г. Выявлено, что степень нарушения, норма и специфика реакции сосны на засуху определялись метеорологическими характеристиками вегетационного сезона, биологией и сроками репродуктивного развития сосны на территории Среднерусской лесостепи. По данным двух засух (2007 и 2010 гг.) и оптимальных лет (2008 и 2008 гг.) подтверждена генетическая и селекционная ценность модельного объекта «Острогожск», характеризующийся стабильностью генома по признакам семенной продуктивности и засухоустойчивости.

Литература

1. *Переведенцев Ю. П., Гоголь Ф. В., Наумов К. М., Шаталинский К. М.* Глобальные и региональные изменения климата на рубеже XX и XXI столетий // Вестник ВГУ. Серия: География. Геоэкология. — 2007. — № 2. — С. 5–12.
2. *Федоров С. В.* Вертикальная дифференциация ландшафтов и проблема границ природных зон в центре Русской равнины // Вестник ВГУ. Серия: География. Геоэкология. — 2008. — № 2. — С. 5–12.
3. *Шевченко В. Е., Белоусов В. И., Турусов В. И.* Засуха и технологическое невежество // <http://www.kapital-rus.ru>. — 1910. — 9 с.
4. *Кузнецова Н. Ф.* Чувствительность генеративной сферы сосны обыкновенной к засухе в Воронежской области // Лесоведение. — 2010. — № 6. — С. 58–65.
5. *Усманов И. Ю.* Эколого-физиологические характеристики некоторых видов растений с разными типами стратегий из сообществ, подвергшихся антропогенному воздействию // Биол. науки. — 1986. — Т. 274, № 10. — С. 66–70.
6. *Суходолец В. В.* Природа адаптивных эволюционных изменений: приспособленность и экологический потенциал // Генетика. — 1999. — Т. 34, № 12. — С. 1589–1596.
7. *Буторина А. К., Черкашина О. Н., Ермолаева О. В., Чернодубов А. И., Авдеева И. А.* Цитогенетический мониторинг аутохтонных лесов Усманского и Хреновского боров // Известия РАН: Серия биологическая. — № 4. — 2007. — С. 508–512.

Резюме

Представлены материалы исследований реакции генеративной сферы сосны обыкновенной на засуху 2010 г. по 7 экологически зависимым морфометрическим и цитогенетическим признакам на контрольном и хозяйственно-ценном модельном объекте.

Представлені матеріали досліджень реакцій генеративної сфери сосни звичайної на засуху 2010 року за сьома екологічно залежним морфометричним та цитогенетичним ознаками на контрольному та господарчо-цінному модельних об'єктах.

The research materials of the response of Scots pine generative sphere to drought in 2010 by 7 ecologically dependent morphometric and cytogenetic signs on the control and economically valuable model objects are presented.

ЛАЦКО Т. А.

*Никитский ботанический сад — Национальный научный центр НААН Украины
Украина, АР Крым, г. Ялта, пгт. Никита, 98648, e-mail: cr_way@mail.ru*

ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ МОРОЗОМ ГЕНЕРАТИВНЫХ ПОЧЕК ГИБРИДОВ ПЕРСИКА F1 В СТЕПНОМ КРЫМУ

Устойчивость к холоду остается важнейшей проблемой селекции персика. Само понятие зимостойкость растений — комплексное, включающее совокупность сложных и простых признаков, детерминированных поли- или олигогенами (Лацко, 2005). Морозостойкость (холодостойкость) генеративных почек, одна из составляющих зимостойкости. Это, прежде всего, способность генеративных органов выдерживать отрицательные температуры без видимых значительных повреждений, ведущих к потере урожая. Считается, что холодостойкость спящих почек наследуется количественно и контролируется неопределенным числом генов, оказывающих небольшое аддитивное влияние (К. О. Хессе, 1981).

Материалы и методы

Цель работы — оценить повреждения генеративных почек персика морозом в естественных условиях степного Крыма и выделить морозостойкие гибриды. Предмет исследований — селекционный фонд персика отдела степного растениеводства Никитского ботанического сада — Национального научного центра, расположенный в центральном степном агроклиматическом районе Крыма. Климат здесь засушливый с короткой, довольно мягкой зимой. Для зимы характерна термическая неустойчивость, повторяемость зим с критическими экстремальными температурами в этой зоне 30–40% (Антюфеев В. В., Важов В. И., Рябов В. А., 2002). Почвы — южный чернозем. Агротехника обычная, принятая в данном агро-климатическом районе. Всего обследовано 256 сеянцев из 10 гибридных семей F1 10-летнего возраста. Подсчет поврежденных почек проводился визуально в лабораторных условиях согласно методикам (Программа и методика, 1973, Методические указания, 1984).

Результаты и обсуждение

Воздействие мороза $-23,1^{\circ}\text{C}$ проходило, когда персик находился в состоянии глубокого физиологического покоя (09.01.2002), т. е. в момент максимальной морозостойкости генеративных почек. Исходные родительские сорта Мадлен Пуйе, Моравия, Огненный, Пушистый Ранний, Спринголд, Старт и др., по различным источникам, относятся к разным группам зимостойкости: 'Пушистый Ранний' относится к зимостойким, 'Старт' — к среднезимостойким, а 'Спринголд' — не зимостойким (Косых С. А., 1982, 1987; Косых С. А., Шоферистов Е. П. 1985, Смыков В. К., Орехова В. П., 1985). К высоко зимостойким относятся образцы с повреждениями до 10% почек, к зимостойким — с 21 до 30%, средние зимостойким — 31–60%, мало зимостойким и не зимостойким — свыше 60%. Анализ повреждений почек показал, что больше всего семян без повреждений цветковых почек или с незначительными повреждениями было в семьях Старт х Арм Голд, Старт х Старк Ред Голд и Старт х Огненный, 87, 70 и 67% соответственно. Меньше всего холодостойких семян выявлено в комбинациях Моравия х Пушистый Ранний и Моравия х Старк Делишес, 15–19% соответственно.

Средняя степень повреждений почек морозом между гибридными семьями также отличается, но её размах меньший, от 20 до 54% (табл. 1). Средние повреждения генеративных почек персика в семьях, где в качестве материнской формы использовалась 'Моравия', были выше (34–54,5%), чем в семьях, где использовался — 'Старт' (21–46%).

Таблица 1

Распределение гибридных семян персика F1 по морозостойкости генеративных почек в условиях степного Крыма

Комбинация скрещивания	Количество семян, шт.	Амплитуда повреждений, %	Средний % повреждений почек, %	Количество семян по группе зимостойкости				Количество зимостойких семян, %
				высоко зимостойкие	зимостойкие	средне зимостойкие	слабо и не зимостойкие	
Моравия х Пушистый Ранний	33	17–81	45,3	0	5	23	1	15
Моравия х Мадлен Пуйе	33	12–70	33,9	0	14	15	1	51
Моравия х Старк Делишес	27	9–93	54,5	1	4	10	12	19
Моравия х Спринголд	16	0–89	45,7	2	3	6	5	31
Моравия х Старк Ред Голд	1	-	20,1		1			
Моравия х Моравия	1	-	41,5			1		
Старт х Армголд	15	6–55	21,4	3	10	2	0	87
Старт х Огненный	50	0–72	26,9	4	29	15	3	67
Старт х Мадлен Пуйе	22	8–65	33,3	1	7	13	1	36
Старт х Спринголд	3	29–75	46,2		2		1	66
Старт х Старк Ред Голд	31	7–57	24,6	4	19	7	1	70

Соотношение колокольчатых и розовидных типов цветков в гибридных семьях Моравия х Мадлен Пуйе, Моравия х Спринголд, Старт х Армголд, Старт х Огненный близко к 1:1. Обследована степень повреждений генеративных почек сеянцев с колокольчатым и розовидным типом цветка в отдельности в четырех комбинациях. В комбинации Старт х Огненный повреждено 24,7% генеративных зачатков у гибридов с колокольчатым типом цветка и 27,1% — с розовидным. В гибридной семье Старт х Армгольд соотношение такое: 22,1% — для «колокольчатых», 20,5 — для «розовидных». В потомстве Моравия х Спринголд повреждения следующие: 44,6% — для «колокольчатых», 43,5% — для «розовидных». Средняя степень повреждения генеративных зачатков в указанных комбинациях скрещивания не связана с типом цветка гибрида и различия между гибридами для любого типа цветка не существенны. Сеянцы с колокольчатым типом цветка семьи Моравия х Мадлен Пуйе имели меньшие повреждения цветковых почек — 31,8%, чем сеянцы с розовидным — 38,6%. Наши данные не соответствуют результатам, приведенным другими авторами. Считается, что образцы с розовидным типом цветка имеют большую морозостойкость генеративных органов во все фазы развития цветка (Рябов, 1975). Вероятно, такая связь проявляется в более поздние фазы развития цветковых почек, когда лепестки уже сформировались, и в розовидных цветках они имеют преимущество над колокольчатыми цветками в виде более толстого и надежного слоя защиты. Повышенной устойчивости цветков розовидного типа содействует строение самого цветка. А на более ранних этапах, когда цветок еще не сформирован, такая закономерность не существенна.

В результате обследования установлены значительные различия по количеству поврежденных генеративных почек между сеянцами внутри гибридной семьи. Распределение сеянцев по степени повреждений генеративных почек четырех гибридных семей показаны на рис. 1. Самые большие различия отмечены в комбинациях Моравия х Спринголд и Моравия х

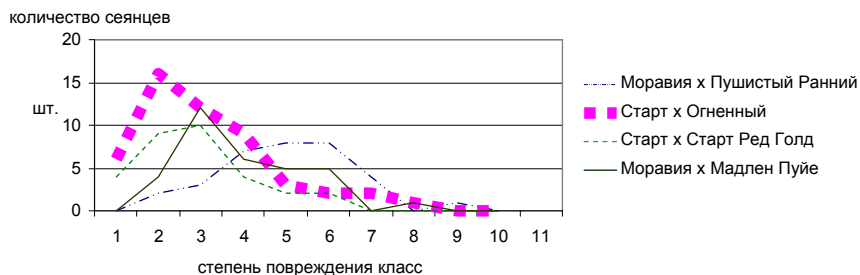


Рис. 1. Сравнительная оценка повреждений морозом генеративных почек персика

1 класс — повреждения 0–10% почек; 2 — 11–20%; 3 — 21–30%; 4 — 31–40%; 5 — 41–50%; 6 — 51–60%; 7 — 61–70%; 8 — 71–80%; 9 — 81–90%; 10 — 91–100%

Старк Делишес и Старт х Огненный (89, 88 и 72% соответственно). У гибридного потомства Моравия х Пушистый Ранний распределение по повреждению почек было близким к кривой нормального распределения. В семьях Моравия х Мадлен Пуйе, Старт х Огненный, Старт х Старк Ред Голд наблюдается сдвиг от нормального распределения (рис. 1). Причем в комбинациях Старт х Огненный и Старт х Старк Ред Голд наблюдается сильное смещение в сторону меньших повреждений на 30–35%, а у семьи Моравия х Мадлен Пуйе — смещение менее значительное.

Выводы

Оценка повреждений генеративных почек гибридов персика F1 зимними морозами в естественных условиях в степной зоне Крыма позволяет сделать следующие выводы:

1. Гибриды персика F1 по морозостойкости генеративных почек в фазе физиологического покоя сильно отличаются как между комбинациями, так и внутри одной комбинации скрещивания.

2. Больше всего морозостойких гибридных семян выделено в гибридных семьях, где в качестве материнской формы выступает сорт Старт: Старт х Армголд, Старт х Старк Ред Гол, Старт х Огненный, 87,70 и 67% соответственно.

3. Распределение изученных гибридов персика F1 по степени повреждений генеративных почек морозом соответствует нормальному с той или иной степенью смещения, что подтверждает количественный тип наследования этого признака.

4. На данной фазе развития генеративных почек персика не выявлено существенных различий в морозостойкости гибридов с различным типом цветка.

Литература

1. *Антюфеев В. В., Вазов В. И., Рябов В. А.* Справочник по климату Степного отделения Никитского ботанического сада. — Ялта: НБС-ННЦ, 2002. — 87 с.
2. *Косых С. А.* Результаты производственного испытания сортов персика в предгорном Крыму // Бюл. Никит. ботан. сада. — 1982. — Вып. 48. — С. 60–64.
3. *Косых С. А., Шоферистов Е. П.* Сорта персика и нектарина в приславье Крыма // Бюл. Никит. ботан. сада. — 1985. — Вып. 56. — С. 40–44.
4. *Косых С. А.* Производственное изучение сортов персика в степном Крыму // Бюл. Никит. ботан. сада. — 1987. — Вып. 62. — С. 51–55.
5. Методические указания по определению элементов зимостойкости садовых растений / Сост. Бурдасов В. М. — М.: ВАСХНИЛ, 1984. — 21 с.
6. *Лацко Т. А.* Зимостойкие сорта персика // Бюл. Никит. ботан. сада. — 2005. — Вып. 91. — С. 68–71.
7. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур // Под общ. ред. Лобанова Г. А. — Мичуринск, 1973. — 492 с.
8. *Рябов И. Н.* Биология цветения и наследование основных признаков плодов и растений персика // Тр. Никит. ботан. сада. — 1975. — Т. 67. — С. 5–136.
9. *Смыков В. К., Орехова В. П.* Зимостойкость персика в степном Крыму // Бюл. Никит. ботан. сада. — 1985. — Вып. 61. — С. 53–55.

10. Хессе К. О. Персик. Селекция плодовых растений / Пер. с англ. Александровой В. Г., Высоцкого В. А., Гаделия Н. В. и др. — М.: Колос, 1981. — 760 с.

Резюме

В статье приведены результаты повреждений морозом генеративных почек гибридов персика F1 в естественных условиях. Дана сравнительная оценка 10 комбинаций скрещивания по количеству полученных морозостойких гибридов. Показано распределение сеянцев по степени повреждений морозом.

У статті приведені результати пошкоджень морозом генеративних бруньок гібридів персика F1 в природних умовах. Дана порівняльна оцінка 10 комбінацій схрещування по кількості отриманих морозостійких гібридів. Показаний розподіл сіянців по ступені пошкоджень морозом.

In the article damages are resulted by the frost of flower buds of peach hybrids F1 in natural terms. A comparative estimation is given 10 combinations of crossing on the amount of the got frost-hardy hybrids. Distributing of seedlings on the degree of damages a frost is presented.

МАКЛЯК К. М.

*Институт растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН,
Украина, 06128, Харьков, проспект Московский, 142,
e-mail: yuriev1908@gmail.com*

ОЦЕНКА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА В ГОДЫ С РАЗНЫМ ТЕМПЕРАТУРНЫМ РЕЖИМОМ

Параметры почвенно-климатических зон Украины, как сред для отбора генотипов, позволяют установить потенциал продуктивности гибридов подсолнечника и уровень приспособленности к стрессовым условиям [1]. Однако, в практике селекционеров гибридного подсолнечника, большую часть комбинаций скрещиваний испытывают на протяжении нескольких лет в пределах одного и того же научного севооборота, в результате чего для получения достоверных данных требуются существенные различия погодных условий по годам исследований (температурный режим, влагообеспеченность). Отработка системы испытаний гибридных комбинаций предусматривает выяснение роли этих условий в способности сред дифференцировать генотипы по важным для отбора признакам.

Повышенный температурный режим в период вегетации — основная причина сокращения сроков прохождения растением фаз развития. В отдельные годы, темпы прохождения подсолнечником отдельных фаз развития приводят к нивелированию существующей между генотипами разницы по продолжительности вегетации, что не позволяет достоверно оценить принадлежность той или иной комбинации скрещивания к определенной группе спелости [2].

Тесная связь между температурой воздуха на протяжении межфазных периодов и скоростью прохождения растением подсолнечника этих фаз [3, 4, 5] позволяет предположить, что температурный режим оказывает непосредственное воздействие на дифференциацию гибридов подсолнечника по продолжительности вегетационного периода и признаки, с ней связанные.

Задачей наших исследований было установить, как способность среды (в данном случае — года испытаний) проявлять среди гибридов изменчивость по продолжительности вегетационного периода зависит от температурного режима года, и определить такие условия, при которых максимальное проявляется дифференциация гибридов по этому признаку.

Материалы и методы

Исследования проведены на протяжении 2007–2009 гг. Гибриды испытывали в условиях опытного поля Института растениеводства им. В. Я. Юрьева НААН (г. Харьков). Планирование, организацию и проведение полевых исследований проводили по методике Б. А. Доспехова [6]. Уход за посевами — общепринятый в зоне выращивания. Предшественник — зерновые колосовые, густота стояния растений — 55–60 тис. на 1 га. Учетная площадь делянки 10,15 м², повторность — трехкратная. Оценку гибридов по продолжительности вегетационного периода проводили в зависимости от количества суток от всходов до цветения 50% растений на делянке. Всходы во все года исследований получены в третьей декаде мая, что позволило исключить влияние эффекта фотопериодизма на скорость прохождения фаз развития.

В изучении находились 243 гибридных комбинации разных групп спелости. Статистическая обработка данных проведена по методике [7].

Температурный режим на протяжении периода «всходы — цветение» (третья декада мая — третья декада июля) оценивали по сумме среднесуточных температур. Начало и конец цветения по годам исследований: 2007 год — с 10 по 22 июля; 2008 год — с 12 по 27 июля; 2009 год — с 7 по 22 июля. Наименьшее количество тепла с третьей декады мая по третью декаду июля было накоплено растениями в 2008 году (1189,5 °C). В 2007 и 2009 годах количество тепла на тот же период было примерно одинаковым (1309,8 °C и 1320,9 °C), однако распределение его по декадам было разным вплоть до первой декады июня (образование корзинки), что в 2007 году привело до ускоренного прохождения растениями периода «образование второй пары листьев — бутонизация».

Результаты и обсуждение

Согласно кривым распределения исследуемых гибридов по продолжительности периода «всходы — цветение», построенным для каждого года испытаний, самым продолжительным этот период был в 2008 году (рис. 1). Несмотря на общее сокращение периода в 2009 году, распределение гибридов на группы спелости (частоты комбинаций) было более выравненным

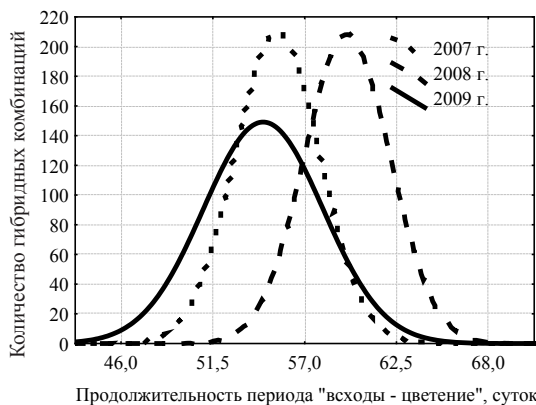


Рис. 1. Распределение гибридных комбинаций подсолнечника по продолжительности периода «всходы — цветение», 2007–2009 гг.

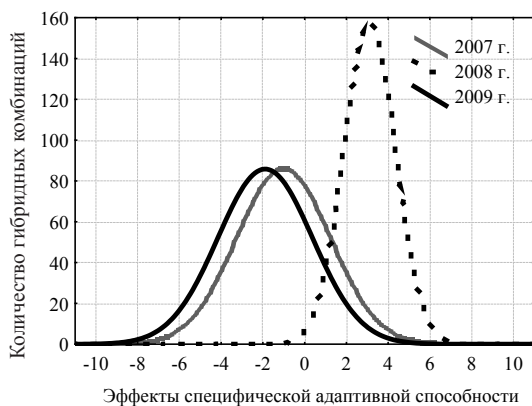


Рис. 2. Распределение гибридных комбинаций подсолнечника по эффектам САС по продолжительности периода «всходы — цветение», 2007–2009 гг.

по сравнению с другими годами, а период цветения общего количества гибридных комбинаций более растянутым во времени.

Эффекты специфической адаптивной способности (САС) характеризуют величину отклонения данного генотипа в данной среде от среднего значения. Способность среды вызвать максимально возможное отклонение признака можно определить путем сравнения распределения гибридов по эффектам САС.

Согласно кривым распределения исследуемых гибридов по эффектам САС, построенным для каждого года исследований, условия 2008 года спо-

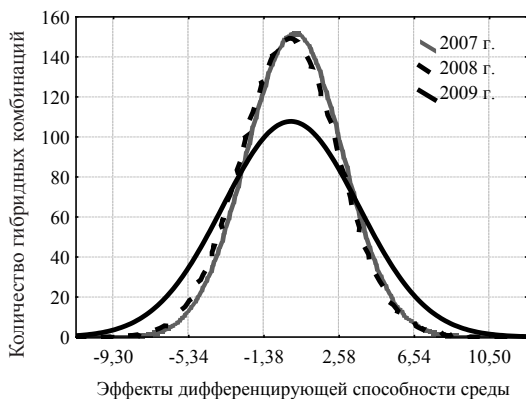


Рис. 3. Распределение гибридных комбинаций подсолнечника по эффектам ДСС по продолжительности периода «всходы — цветение», 2007–2009 гг.

способствовали проявлению максимально высоких эффектов САС при минимальном их размахе (рис. 2). Реакция гибридов на условия 2007 и 2009 годов была схожей.

Эффекты дифференцирующей способности среды (ДСС) характеризуют год испытания по способности выявлять изменчивость конкретной гибридной комбинации. Согласно кривым распределения гибридных комбинаций по эффектам ДСС, наибольшую способность к дифференциации показали условия 2009 года, а 2007 и 2008 годы по этому показателю были практически одинаковыми (рис. 3).

Статистические параметры, характеризующие среды как фоны для отбора, приведены в таблице 1. По показателю d_k , условия 2009 года способствовали максимальному сокращению продолжительности периода «всходы — цветение», условия 2008 года — максимальному увеличению. Сред-

Таблица 1
Способность сред к дифференциации гибридов подсолнечника по продолжительности периода «всходы — цветение», 2007–2009 гг.

Год испытаний	Среднее значение признака	d_k	s_{ek}	t_k	P_k	Фон*
2007	55,3	-1,1	4,5	0,558*	0,025	Н
2008	59,5	3,0	4,2	0,878*	0,037	Н
2009	54,5	-1,9	6,5	0,798*	0,051	Н
среднее	56,4	0,0	5,1	-	-	-
НСР ₀₅ сравнения со средней	0,96					
НСР ₀₅ попарного сравнения	1,36					

Примечания: 1) * достоверно на 5%-ном уровне значимости; 2) ** Н — нивелирующий фон.

няя продолжительность периодов в каждом году достоверно отличалась от средней по всем годам, при сравнении попарно — 2008 год достоверно отличался от 2007 и 2009 годов.

Относительная дифференцирующая способность среды s_{ek} , рассчитанная в процентах, была максимальной в 2009 году (год самой короткой продолжительности периода). Согласно величине s_{ek} , погодные условия ни одного из годов исследований не способствовали максимальной дифференциации гибридов по продолжительности периода «всходы — цветение» ($s_{ek} < 10\%$, нивелирующий фон).

Коэффициенты типичности t_k были высокими и достоверными. Коэффициенты предсказуемости P_k , как комплексные показатели, позволяющие ранжировать среды по их пригодности служить фоном для отбора, позволили распределить года испытаний следующим образом: 2009 год — 2008 год — 2007 год.

Выводы

По величине показателя s_{ek} , погодные условия годов испытаний не позволили максимально дифференцировать гибриды подсолнечника по продолжительности периода «всходы — цветение», хотя характер распределения гибридов различается по годам. Наибольшую способность среды к дифференциации гибридов установлено в год с максимальной суммой температур на протяжении периода и с минимальной продолжительностью периода (2009 год). Оценка гибридов по продолжительности периода зависит от распределения тепла по межфазным периодам, что требует более детальных исследований.

Литература

1. Параметри екологічного середовища як фону для оцінки врожайності гібридів соняшнику / В. В. Кириченко, К. М. Макляк, Н. М. Кутіщева, Б. Ф. Вареник // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. / НАН України, НААН України, АМН України, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова; редкол.: В. А. Кунах (голов. ред.) [та ін.]. — К.: Логос, 2010. — Т. 8. — С. 354–359.
2. Розробити теоретичні основи та створити нове покоління високопродуктивних гібридів соняшнику, стійких до основних хвороб, з високою ефективністю насінництва, з метою максимального використання генетичного потенціалу природно-кліматичних факторів / В. В. Кириченко, К. М. Макляк, В. П. Коломацька [та ін.] // Звіт про науково-дослідну роботу Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва УААН за 2006–2010 рр. (заключний). — Харків, 2010. — Т. 5. — С. 3–71.
3. *Фурсова Г. К.* Соняшник: систематика, морфологія, біологія: навч. посібник / Харк. держ. аграр. ун-т ім. В. В. Докучаєва. — Харків, 1997. — 126 с.
4. A development, growth and yield model of the sunflower / F. J. Villalobos, A. Hall, J. Ritchie, F. Orgaz // *Agron. J.* — 1996. — Vol. 88. — P. 403–415.
5. *Goyne P. J.* Prediction of time to anthesis of a selection of sunflower genotypes / P. J. Goyne, A. A. Schneiter, K. C. Cleary // *Agron. J.* — 1990. — Vol. 82. — P. 501–505.
6. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта / Б. А. Доспехов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.

7. Кильчевский А. В. Метод оценки адаптивной способности и стабильности генотипов [растений], дифференцирующей способности среды. Сообщение 1. Обоснование метода / А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева // Генетика. — 1985. — Т. 21, № 9. — С. 1481–1490.

Резюме

На протяжении трех лет исследований определены параметры среды как фона для дифференциации гибридов подсолнечника. Установлены изменения в распределении гибридов на группы спелости и изменения параметров среды в годы, разные по температурному режиму.

Впродовж трьох років досліджень визначено параметри середовища як фону для диференціації гібридів соняшнику. Встановлено зміни у розподілі гібридів на групи стиглості та зміни параметрів середовища у роки, різні за температурним режимом.

During three years of the investigations the parameters of the environment as to the background for differentiation of sunflower hybrids are estimated. Changes in distributing of hybrids on the groups of ripeness, and change of parameters of environment in years, different after a temperature condition, are set.

МАЛЮЖЕНЕЦ Н. С.

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт кормов
им. В. П. Вильямса Россельхозакадемии, nnkozlov@rambler.ru*

ХАРАКТЕР ПРОЯВЛЕНИЯ И ИЗМЕНЧИВОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА КОРМА У РАЗНЫХ ВИДОВ ПОЛЕВИЦЫ

Род *Agrostis* L. насчитывает более 100 видов, из которых наибольший практический интерес для лесной зоны Европейской части России представляют полевица гигантская, полевица тонкая, полевица побегообразующая, которые хорошо адаптированы для холодных и влажных условий произрастания. Полевица относится к позднеспелым злакам, быстро отрастает после скармливания и дает нежную отаву, хорошо поедаемую скотом. В травосмесях используется как пастбищная, сенокосная и газонная культура. В спортивных газонах северных районов и средней полосы России доля полевицы варьирует от 10 до 15 % травосмеси, в Англии 15–20 %, Венгрии до 25 %. [1] Долголетие, декоративность и толерантность к короткой стрижке (до 3–5 мм) позволяют широко использовать полевицу тонкую и побегообразующую при создании гольф полей. В зависимости от почвенно-климатических условий их долевое участие колеблется от 15–20 до 100 %. В травосмеси «Гольф» используется 15 % полевицы побегообразующей и 15 % полевицы тонкой, в смеси Грин – 20 % полевицы тонкой. При посеве гольф газона Бенгал используют только семена полевицы побегообразующей с минимальной высотой стрижки 3 мм, а при создании гольф полей Бар ол Бент высевает смесь из 2–3 сортов полевицы тонкой (4–6 г/м²), выдерживающих стрижку до 3–5 мм.

Полевица гигантская (*Agrostis gigantea* Roth., $2n=6x=42$) — сравнительно высокое растение (30–120 см), относится к корневищным, низовым травам с большим количеством генеративных побегов. Метелка крупная, раскидистая (до 25 см), масса тысячи семян 0.14–0.15 г. Влаголюбивое растение, выдерживающее длительное затопление весенними водами. Мирится с кислотностью и умеренным засолением почвы. Устойчива к основным болезням, включая ржавчину, спорыню и пятнистость листьев. В травостое держится более 10 лет и используется для создания долголетних сенокосов и пастбищ.

Полевица тонкая (*Agrostis tenuis* Sibth., $2n=4x=28$) относится к долголетним, низовым, рыхлокустовым злакам и формирует густые дерновины высотой 50–75 см. Метелка до 15 см, после цветения раскидистая. Лист короткий (8–10 см), узкий (4–6 мм). Растение сухих и кислых подзолистых почв, является основным компонентом травостоя на деградированных и выбитых пастбищах Нечерноземья.

Полевица побегообразующая (*Agrostis stolonifera* L., $2n=4x=28$) — низовое бескорневищное растение с полегающими, стелющимися и многократно укореняющимися в узлах побегами, образующими низкие густые ковры. Высота растения от 20–30 до 50 см. Метелка длиной 8–12 см, до и после цветения сжатая. Лист короткий (4–6 см.) при ширине листовой пластинки 2–4 мм. Холодостойкий, влаголюбивый и теневыносливый вид, является типично пастбищным растением с высокой устойчивостью к вытаптыванию скотом. [2]

С целью выявления перспективного материала для селекции нами проведена оценка показателей качества корма у трех видов полевицы из набора коллекционных сортов отечественной и зарубежной селекции и дикорастущих образцов, собранных экспедициями отдела генофонда ВНИИ кормов им. В. Р. Вильямса.

Материал и методика

Проведено изучение 14 генотипов полевицы, в их числе 4 генотипа полевицы гигантской — ВИК 2, и Чара (ВНИИ кормов), Roznovsky и Kamekes (Чехословакия), 4 генотипа полевицы тонкой — К-43896 (Норвегия) и три дикорастущих образца из Карелии (номера 127, 130, 134.) и 6 генотипов полевицы побегообразующей — Cromi (Дания), Karmen и Prominent (Голландия), Seuside (США), дикорастущий № 170 из поймы р. Оки и дикорастущий № 181 из поймы р. Печора. Материал по каждому генотипу высевали по 3 семени в кассеты для получения рассады, которую после трехмесячного выращивания в условиях теплицы высаживали в поле индивидуально с площадью питания 45х45 см на двухрядковых делянках в трехкратной повторности. Характер проявления признаков фиксировали по методикам ВНИИ кормов [3]. В 2010 г. из каждого образца были отобраны лучшие растения, которые были клонированы и высажены в отдельном питомнике с площадью питания 50х50 см.

Химический анализ проводили в лаборатории физико-химических методов исследования ВНИИ кормов согласно ГОСТам. Отбор проб на анализ осуществляли в фазу цветения. Сырую клетчатку определяли по Ганнебергу и Штоману (ГОСТ Р 52839-2007), сырой жир по С. В. Рушковскому (ГОСТ 13496.15-97), сырую золу по методу сухого озоления (ГОСТ 26229-95), фосфор (Р) определяли ванадат-молибдатным фотометрическим методом (ГОСТ 97266-57), калий (К)-пламенно-фотометрическим методом (ГОСТ 30504-97), общий азот фотометрическим индофенольным методом (ГОСТ 13496.4-93)

Статистическая обработка данных проводили на ПК по программе «Statistica 6».

Результаты и обсуждение

Представленные в таблице 1 данные свидетельствуют о том, что максимальное значение по содержанию сухого вещества отмечено у образцов полевицы тонкой, а минимальное у полевицы побегообразующей. Снижение данного показателя происходило главным образом за счет уменьшения содержания сырой клетчатки и одновременном увеличении содержания сы-

Таблица 1

Характер проявления показателей качества корма у разных видов полевицы

Наименование образца	Содержание, %						
	сухого вещества	сырой клетчатки	сырого жира	сырого протеина	сырой золы	фосфора	калия
Полевица гигантская							
ВИК 2	44,7	25,7	2,6	7,9	4,7	0,16	0,9
Чара	38,8	28,5	2,8	11,5	4,8	0,22	1,1
Roznovsky	41,2	27,3	2,8	9,4	5,0	0,14	0,8
Kamekes	42,5	28,1	2,9	10,9	4,6	0,16	0,9
Среднее (x±Sx)	41,8±1,2	27,4±0,6	2,8±0,1	9,9±0,8	4,8±0,1	0,17±0,02	0,9±0,1
Полевица тонкая							
К-43896	47,2	27,7	2,7	9,8	6,2	0,18	1,2
№ 127	44,9	28,1	2,2	9,7	5,6	0,20	1,2
№ 130	41,7	25,7	1,8	10,6	6,0	0,22	1,2
№ 134	45,1	27,3	3,0	11,1	6,8	0,20	1,5
Среднее (x±Sx)	44,7±1,1	27,2±0,5	2,4±0,3	10,3±0,4	6,1±0,2	0,20±0,01	1,3±0,1
Полевица побегообразующая							
Cromi	37,5	21,7	4,4	12,8	6,6	0,22	1,2
Karmen	38,9	24,2	3,6	12,0	6,8	0,19	1,0
Prominent	39,8	23,8	3,4	12,6	6,1	0,20	0,8
Seuside	40,9	24,4	2,9	8,5	6,3	0,20	1,0
№ 170	43,4	23,5	3,6	11,1	5,1	0,14	0,7
№ 181	31,3	15,8	4,9	17,1	5,6	0,22	0,9
Среднее (x±Sx)	38,6±1,7	22,2±1,3	3,8±0,3	12,3±1,1	6,1±0,2	0,20±0,05	0,9±0,1

рого жира и сырого протеина. Среди побегообразующих полевиц выделился образец, отобранный экспедицией нашего института в 2008 году в пойме реки Печора у которого содержание протеина составляло — 17.06%, содержание жира — 4.93%, сырой клетчатки — 15.78% при содержании сухого вещества — 31.27%. Аналогичные показатели у стандарта ВИК-2, относящегося к *A. gigantea* Roth., составляли по сырому протеину — 7.88%, по содержанию жира — 2.60%, сырой клетчатке — 25.69% и сухому веществу — 44.70%, что свидетельствует о существенной генетической дивергенции образцов, относящихся к разным видам. В целом для образцов полевицы гигантской характерно высокое содержание сырой клетчатки, сухого вещества, умеренное содержание сырого жира и относительно низкое содержание сырого протеина и золы при высокой урожайности зеленой массы, сена и семян.

Очевидно, что генетическое улучшение растений требует знания характера изменчивости важнейших хозяйственных признаков и свойств. Низкий уровень генотипической изменчивости по тому или иному признаку указывает на необходимость поиска новых источников как внутри вида, так и вне, включая межвидовую и отдаленную гибридизацию, полиплоидию и мутагенез.

Анализируя генотипическую изменчивость хозяйственных признаков у разных видов полевицы (таблица 2), следует отметить, что для имеющегося набора генотипов полевицы гигантской характерны низкие коэффициенты вариации по таким признакам как высота растения, по продолжительности периода «отрастание-выметывание», по содержанию сухого вещества, сырой клетчатки и сырого жира. По содержанию сырого протеина, фосфора и калия наблюдалось значительное варьирование, что свидетельствует о дальнейшей возможности селекционной работы по данным показателям. Для коллекционных образцов полевицы тонкой отмечено значительное варьирование по высоте растения, продолжительности периода «отрас-

Таблица 2

Коэффициенты вариации (CVg%) показателей качества корма у разных видов полевицы.

Показатели	<i>Agrostis gigantea</i> Roth.	<i>Agrostis tenuis</i> Sibth.	<i>Agrostis stolonifera</i> L.	<i>Agrostis sp.</i>
Высота растения	8,45	14,43	32,84	43,32
Отрастание-выметывание	3,14	10,25	18,20	12,85
Содержание сухого вещества	5,93	5,07	10,62	9,74
Сырая клетчатка	4,95	3,82	14,80	13,50
Сырой жир	7,01	23,04	10,52	26,28
Сырой протеин	16,45	6,70	22,72	20,34
Сырая зола	3,43	7,96	10,53	13,48
Содержание фосфора	20,00	8,00	21,08	15,35
Содержание калия	14,58	12,69	18,47	20,68

тание-выметывание» и содержанию сырого жира. Высокая и очень высокая изменчивость по всем изучаемым признакам характерна для образцов полевицы побегообразующей, что открывает широкую возможность для селекционной практики при подборе родительских форм для формирования синтетических популяций и последующего отбора новых оригинальных форм.

Коэффициенты корреляции показывают, какая доля общей вариации признака зависит от изменчивости другого, связанного с ним признака, и играют важную вспомогательную роль в селекционной практике. В. Иогансен подчеркивал, что законы коррелятивной изменчивости для генотипически неоднородных популяций являются лишь средними правилами статистического порядка: отбором их можно обойти, сдвинуть, сломать. Искусство селекционера заключается в обнаружении в гетерогенных популяциях растений с уникальными сочетаниями признаков и свойств, хорошо адаптированных к конкретным условиям внешней среды.

Анализ коэффициентов корреляции показал, что у всех изучаемых видов содержание сырого протеина имеет отрицательную связь с содержанием сырой клетчатки, сухого вещества и высотой растения. Исключением являются образцы полевицы гигантской, имеющие достоверную положительную корреляцию сырого протеина с сырой клетчаткой. Одним из объяснений этого факта может являться ограниченный набор изучаемых сортов. Исследованиями показано, что содержание сырой клетчатки отрицательно связано с концентрацией обменной энергии ($r = -0.96$) и переваримостью органического вещества [4].

Таким образом, проведенный анализ указывает на возможность выявления генотипов, сочетающих высокую продуктивность с хорошими показателями качества корма. Фактические данные по новому сорту Чара селекции ВНИИ кормов свидетельствуют о реализации удачного совмещения высокой урожайности и хороших показателей качества корма (сырой протеин — 11,5%, сырая клетчатка — 28,5%, сырой жир — 2,82%). Среди изучаемых образцов полевицы тонкой благоприятное сочетание продуктивности и показателей качества корма отмечено у образца № 134 (сырой протеин — 11,12%, сырая клетчатка — 27,3%, сырой жир — 3,05%, сырая зола — 6,75%). У полевицы побегообразующей по содержанию сырого протеина и сырого жира выделились № 181, Кроми, Проминент и Кармен при низком содержании сырой клетчатки.

Литература

1. *Абрамшвили Г.Г.* Спортивные газоны. — М.: Советский спорт. — 1984. — 159 с.
2. *Виноградова Т.А.* Определитель луговых злаковых трав Нечерноземной зоны. — Л.: Колос. — 1984. — 112 с.
3. Методические указания по селекции многолетних трав. — М. — 1985. — 188 с.

Резюме

Изучены особенности проявления, изменчивости и взаимосвязей показателей качества корма у 14 генотипов полевицы, относящихся к трем видам. Отмечена высокая изменчивость содержания сырого жира у полевицы тонкой и сырого протеина у полевицы побегообразующей. Выявлена положительная корреляция между содержанием сырого протеина и сырого жира и отрицательная связь содержания сырого протеина с содержанием сухого вещества.

Вивчено особливості прояву, мінливості і взаємозв'язків показників якості корму у 14 генотипів мітлиці, що відносяться до трьох видів. Відзначено високу мінливість вмісту сирого жиру у мітлиці тонкої і сирого протеїну у мітлиці пагоноутворюючої. Виявлена позитивна кореляція між вмістом сирого протеїну і сирого жиру і негативний зв'язок вмісту сирого протеїну та вмістом сухої речовини.

The peculiarities of manifestation, variability, and the relationship of quality food in 14 genotypes belonging to three bentgrass species. The high volatility of crude fat content from bent thin and crude protein in pobegoobrazuyushey bentgrass. Positive correlation between the content of crude protein and crude fat content and a negative correlation of crude protein and dry matter content.

МИТРОФАНОВА О. В.¹, МИТРОФАНОВА И. В.^{1,2}, ЛЕСНИКОВА-СЕДОШЕНКО Н. П.¹, ШЕРСТЮК В. А.³, КОСТЮК А. А.³

¹ Никитский ботанический сад — Национальный научный центр НААН Украины, пгт. Никита, г. Ялта, АР Крым, Украина, in_vitro@ukr.net

² Учебно-научный центр биологии и экологии субтропических культур и ландшафтоведения Национального университета биоресурсов и природопользования Украина, г. Ялта, АР Крым, Украина, nikita@naui.kiev.ua

³ ООО Агрофирма «Сады Украины», г. Харьков, Украина

МОНИТОРИНГ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СОСУДИСТЫХ БОЛЕЗНЕЙ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В САДОВЫХ АГРОЦЕНОЗАХ

В Никитском ботаническом саду (НБС-ННЦ) в период с 1963 по 1980 гг. были выполнены значительные исследования по выявлению причин сильно распространившегося усыхания косточковых плодовых культур [1]. Тем не менее, данная проблема остается актуальной и в настоящее время, особенно в связи с интенсивным развитием садоводства, международным и внутренним обменом семенным и посадочным материалом. В отдельные годы около 50% насаждений после 2–3-х летнего плодоношения внезапно гибнут (черешня, персик, груша). Ранее было установлено, что основной причиной усыхания плодовых культур являются грибные, бактериальные и вирусные болезни [2–6]. Одни из них распространяются широко и быстро, что может принимать характер эпифитотий и причинять огромные убытки садоводству. Другие же развиваются более медленно, влияя на долговечность дерева, урожай и качество плодов. Поэтому наши исследова-

дования были направлены на диагностику и идентификацию возбудителей сосудистых заболеваний и вирусных инфекций плодовых культур и разработку приемов оздоровления растений.

Объекты и методы

Исследования проводили в 2006–2011 гг. на перспективных и промышленных сортах персика, черешни, груши, выращиваемых в Ялтинском, Севастопольском, Симферопольском, Бахчисарайском районах АР Крым, Запорожской, Днепропетровской и Херсонской областях. Обследование насаждений, идентификацию возбудителей проводили по общепринятым в фитопатологии, вирусологии и биотехнологии методам [5, 7–9]. Отобранные в апреле – сентябре сортообразцы груши, черешни и персика с признаками поражения различными болезнями исследовали на выявление бактериальной, грибной и вирусной инфекций в лаборатории биотехнологии и вирусологии растений НБС-ННЦ. При выявлении причин заболевания применяли современные фитопатологические и вирусологические методы; влажные камеры, световую микроскопию; при идентификации вирусов использовали тест-системы ИФА и систему Пиротест-ИФА. Для выделения бактерий органы и ткани с пораженных сортообразцов стерилизовали и выделяли в культуру *in vitro* на мясопептонный и картофельно-пептонный агары. Определение возбудителей бактериальных заболеваний проводилось путем изучения культуральных и биохимических свойств и пересева колоний бактерий на дифференцирующие селективные среды King и D3 [10].

Результаты и обсуждение

Проведенный мониторинг выявления патогенов и степени поражаемости плодовых культур в южных и юго-восточных районах Украины показал, что среди известных заболеваний в последние годы наиболее вредоносными и причиняющими большой экономический ущерб садоводству являются сосудистые заболевания. В процессе проведенных в 2006–2011 гг. исследований насаждений плодовых культур и последующего лабораторного анализа более 2000 сортообразцов груши, черешни, персика были идентифицированы возбудители вертициллеза, бактериоза и вирусных инфекций.

Вертициллез или вертициллезное увядание плодовых культур. Вызывает трахеомикозное заболевание побегов и ветвей, что приводит к снижению урожайности и преждевременной гибели деревьев. Как показали наши исследования, характерным диагностическим признаком болезни является некроз древесины, заметный на долевым и поперечном срезе пораженных побегов и ветвей, хорошо просматривается по ксилемному кольцу (рис. 1). При идентификации патогена в лабораторных условиях в пораженных сосудах обнаружена многоклеточная ветвящаяся грибница возбудителя. Изучение выделенных нами изолятов патогена на мальц-пептонном агаре с последующим микроскопированием позволили выявить наличие двух возбудителей вертициллезного заболевания: 1) *Verticillium dahliae* Kleb. —

колонии серого или белого цвета; мицелий бесцветный, микросклеротии оливковые, округлые. Конидии гриба бесцветные, от эллипсоидальных до округлых, размером 4,8–7 x 2,5–3,5 мкм; 2) *Verticillium albo-atrum* Reinke et Bert. — мицелий гриба бесцветный, собран в мицелиальные тяжи, позднее буреет, образуя темно окрашенные тяжи. Хламидоспоры бурые, удлиненные или округлые, собраны в цепочки с толстой оболочкой. Конидии бесцветные, эллипсоидальные, размером 4–7 x 2,7–4 мкм. Как показали результаты визуальной оценки и лабораторного анализа, наибольшую вредоносность плодовым деревьям причиняет возбудитель *Verticillium dahliae* Kleb., наиболее часто обнаруживаемый в сосудистой системе скелетных ветвей, побегов и стволов, вызывающий отмирание ветвей и, в конечном итоге, гибель деревьев (рис. 2). Возбудители были обнаружены в сортах персика ('Вавиловский', 'Лебедев', 'Посол Мира'), черешни ('Дилемма', 'Дружба', 'Изюмная', 'Рубиновая Ранняя', 'Сказка', 'Талисман'), груши ('Аббат Феттель', 'Виктория', 'Уманская').

Что касается **бактериальных болезней** плодовых культур, по степени вредоносности они находятся на одном уровне с вертициллезом. Однако частота встречаемости возбудителей вертициллеза выше, чем бактериоза. Так, на черешне возбудитель бактериоза *Pseudomonas syringae* van Hall. встречается реже по сравнению с вертициллезом. При проведении мониторинга поражаемости груши бактериозом обследовано 800 деревьев сорта Виктория, 500 деревьев сорта Талгарская Красавица и отдельные деревья сорта Дильбар. При идентификации патогенов на дифференцирующих селективных средах D3 и King подтверждены два возбудителя бактериоза — *Pseudomonas syringae* и *Pseudomonas piri* (Djakova) Gorl. *Ps. piri* в основном обнаружен на сортах Виктория и Дильбар. Сорт Талгарская Красавица оказался более устойчивым к *Ps. piri*. Так из 500 обследованных деревьев количество пораженных растений составило 1,4%. При попытке зара-



Рис. 1. Некроз молодой древесины черешни в виде кольца (сорт Дружба), вызванный вертициллезом



Рис. 2. Спороншение гриба *Verticillium dahliae* Kleb., выделенного из пораженного побега черешни на селективной среде

жения зеленых плодиков груши инокулюмом с деревьев, имеющих явные признаки поражения бактериальным ожогом, инфицирования не произошло, что подтверждает отсутствие возбудителя *Erwinia amylovora* в насаждениях исследуемой культуры. В отобранных образцах груши сортов Виктория, Жюль Гийо и Талгарская Красавица нами выявлен возбудитель бактериальной болезни *Ps. piri*.

Бактериоз. На сортах черешни и персика возбудителем бактериальной болезни является в основном *Ps. syringae*. В местах проникновения бактерий на коре образуются вдавленные, вытянутые язвы. При этом не всегда отмечается камедетечение, но в некоторых случаях появляется кислый запах и последующее отмирание коры и побегов. Листья увядают и пораженные ветви усыхают. На примере черешни сортов Дилемма и Талисман нами отмечено поражение кроны деревьев с одной стороны. При этом выявлены мелкоплодность, скручивание листьев, хлороз листьев и усыхание скелетных ветвей. Характерные симптомы поражения возбудителем *Ps. syringae* наблюдали у черешни сортов Валерий Чкалов, Дилемма, Драгана Желтая, Крупноплодная, Талисман, персика сортов Ветеран, Красная Девница, Посол Мира, Пушистый Ранний, Рилайнс и груши сорта Виктория.

Европейский ожог или бактериальный ожог груши. Возбудитель — *Ps. piri*. Нами отмечено, что заражение растений происходит в основном через вегетативные и генеративные почки, расположенные на концах молодых побегов. Бактерии проникают внутрь через механические повреждения — ранки, реже через устьица. В процессе обследования было выявлено, что листья, почки, цветки увядали, засыхали и оставались висеть на дереве (рис. 3). Побеги приостанавливали рост, искривлялись, бурели и засыхали. На поперечном разрезе отмечено потемнение сосудов в виде сплошного кольца или отдельных точек. При этом экссудат отсутствовал. Колонии на агаризованной среде были слизистыми, блестящими и неокрашенными (рис. 4). Пчелы, жуки и другие насекомые активно распространя-



Рис. 3. Побеги груши сорта Виктория, пораженные бактериозом (*Pseudomonas piri* (Djakova) Gorl.)



Рис. 4. Колонии бактерий *Pseudomonas piri* на селективной среде King

ют инфекцию во время цветения. В насаждениях плодовых культур основным местом сохранения и перезимовки этих бактерий являются побеги, генеративные почки, плодушки и «копьецо».

Вирусные болезни. Наряду с бактериальными и грибными болезнями сосудистые заболевания вызывают также вирусы, снижающие урожайность и долговечность плодовых деревьев. В результате проведенных исследований с использованием иммуноферментного анализа и стандартного теста на растениях-индикаторах идентифицировано 5 возбудителей вирусных инфекций: *Apple chlorotic leaf spot virus* — ACLSV (черешня сорта Рубиновая Ранняя), *Cherry leaf roll virus* — CLRV (черешня сорта Талисман), *Prune dwarf virus* — PDV (персик сорта Янги), *Prunus necrotic ringspot virus* — PNRSV (персик сортов Мрия, Лебедев, черешня сорта Дилемма); *Plum pox virus* — PPV (обнаружен на сортах персика и нектарина в АР Крым) [6].

Учитывая высокую инфекционную нагрузку в насаждениях черешни, груши и персика, нами были проведены испытания ряда препаратов (амиксин, фалькон и др.), ингибирующих патогены и обладающих иммуномодулирующим действием на растения. Для этих целей впервые на опытных деревьях были установлены капельницы с растворами препаратов, что вызвало улучшение общего состояния деревьев. Наряду с этим проводится оздоровление растений с применением биотехнологических методов.

Выводы

Таким образом в результате мониторинга фитопатогенов в ряде регионов Украины (АР Крым, Запорожская, Херсонская, Днепропетровская обл.) установлено, что распространенными в коллекционных и промышленных насаждениях плодовых культур являются вертициллез, бактериальные и вирусные болезни, оздоровление от которых возможно с применением современных биотехнологий *in situ* и *in vitro*. Выявлены наиболее характерные симптомы проявления этих болезней на изучаемых культурах.

Получены положительные результаты оздоровления черешни от вертициллеза при капельно-орошаемом введении в проводящую систему дерева перспективных препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием.

Литература

1. Петрушова Н. И., Овчаренко Г. В., Евмененко А. Ф. Инфекционное усыхание черешни в Крыму // III Всесоюзная конференция по бактериальным болезням растений, Тбилиси, 14–16 октября 1976 г. — Тез. докл. — Тбилиси: Мецниереба, 1976. — С. 116–118.
2. Василькова А. К. К вопросу о бактериальном ожоге черешни в южной степи Украины // Сб. науч. тр. Украинского науч.-иссл. Института садоводства. — 1959. — Вып. 34. — С. 493–505.
3. Понушой И. С. Болезни усыхания плодовых деревьев в СССР. — Кишинев, 1970. — 268 с.

4. Потлайчук В.И. Микозные усыхания плодовых пород. — М., 1976. — 128 с.

5. Изучение вирусов и вирусных болезней косточковых плодовых культур на юге Украины и особенности оздоровления растений *in vitro* / О.В. Митрофанова, И.В. Митрофанова, В.Н. Ежов, Н.П. Лесникова-Седошенко, Л.А. Лукичева, А.В. Смыков, В.В. Сенин, Т.В. Литвинова // Бюлл. Никит. Ботан. сада. — 2005. — Вып. 91. — С. 111–120.

6. Биотехнологические системы диагностики вируса шарки сливы (*Plum pox virus*) и отбора толерантных сортов косточковых плодовых культур / О.В. Митрофанова, И.В. Митрофанова, С.Н. Чирков, В.Н. Ежов, Н.П. Лесникова-Седошенко // Сб. науч. тр. Никит. ботан. сада. — 2009. — Т. 131. — С. 94–103.

7. Ячевский А.А. Бактериозы растений. — М.-Л., 1935. — 711 с.

8. Калиниченко Р.И., Панфилова Л.Г. Экспресс-диагностика возбудителя бактериального ожога плодовых // Сельское хозяйство за рубежом. — 1980. — № 12. — С. 27–29.

9. Хохряков М.К., Доброзракова Т.Л., Степанов К.М., Летова М.Ф. Определитель болезней растений. — СПб.; М.; Краснодар: Лань, 2003. — 592 с.

10. Kado C.I., Heskett M.G. Selective Media for Isolation of *Agrobacterium*, *Corynebacterium*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, and *Xanthomonas* // Phytopathology. — 1970. — V. 60, N 6. — P.969–976.

Резюме

Приведены результаты мониторинга и показана вредоносность грибных, бактериальных и вирусных патогенов в промышленных и коллекционных насаждениях юга и юго-востока Украины.

Наведені результати моніторингу та показано шкодочинність грибних, бактеріальних і вірусних патогенів у промислових і колекційних насадженнях півдня і південного сходу України.

The results of monitoring have been demonstrated. The harmful activity of fungal, bacterial and viral pathogens in industrial and collectible plantations of South and South-East of Ukraine has been shown.

МИХАЛЬСЬКА Л.М., ШВАРТАУ В.В.

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17
e-mail: Mykhalskaya_L@ukr.net

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ СУМІСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ САПРОПЕЛІВ ТА ГЕРБИЦИДІВ У ПОСІВАХ ВИСОКОПРОДУКТИВНИХ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

Зважаючи на зростаючу проблему продовольчого забезпечення населення, виключно важливим напрямом є розвиток досліджень механізмів регуляції іонного гомеостазу, дії біологічно-активних речовин, що є складовою створення сортів та агрохімікатів нового покоління, у тому числі добрий з високими коефіцієнтами засвоєння поживних речовин [7, 8, 19–25].

Відомо, що для реалізації потенційної продуктивності сучасних високоінтенсивних сортів озимої пшениці при їх вирощуванні у різних ґрунтово-кліматичних зонах України, має значення розробка спеціалізованих до групи сортів/сортів, комплексних добрив та систем живлення і захисту [5–9, 12–13]. При розробці комплексних добрив для позакореневого підживлення зниження сольового індексу може досягатися додаванням органічних речовин (сапропелі та продукти їх гідролізу, амінокислоти, компоненти циклу синтезу нікотинамідів тощо) із властивостями переносників іонів у рослини та не фітотоксичних хелатуючих агентів. В якості останніх як перспективні розглядаються глибоководні органо-мінеральні осади (ГВОМО) на дні Чорного моря, у т. ч. сапропелі.

У цих умовах значну роль відіграють використання та оптимізація різних способів живлення рослин для забезпечення рослин елементами мінерального живлення, підвищення коефіцієнтів їх використання з добрив та сумісне застосування технологій живлення і захисту. У зв'язку з цим, особливої актуальності набуває, поряд із ґрунтовим живленням рослин, розробка поживних сумішей і використання позакореневого живлення й передпосівної обробки насіння мінеральними елементами сумісно з сучасними пестицидами [5–9, 12–13].

В Україні рівні внесення мінеральних та органічних добрив виключно низькі та не забезпечують досягнення високих рівнів врожайності культур у рослинництві. Зростання сільськогосподарського виробництва супроводжується прискоренням темпів споживання мінерально-сировинних ресурсів і зменшення ймовірності відкриття нових крупних родовищ сировини для виробництва добрив. Тому, в Україні все більш актуально стає проблема промислового освоєння покладів ГВОМО Чорного моря.

Особливістю ГВОМО Чорного моря є їх походження з продуктів розкладу живих організмів та присутність у них макро-, мезо- і мікроелементів, численних органічних речовин, що робить їх важливою складовою екологічно безпечних технологій вирощування високих та якісних врожаїв сільськогосподарських культур [1–3, 14–16, 18–21]. На противагу мінеральні фосфорні добрива в Україні мають високий вміст фтору та важких металів, а добрива численних фірм з мікроелементами містять ЕДТА та інші хеланти органічного синтезу, що відносно повільно метаболізують в екосистемах. Тому, добрива з ГВОМО Чорного моря, у тому числі комплексні органо-мінеральні добрива на їх основі, можуть бути вагомим чинником забезпечення екологічно безпечного землеробства, високих врожаїв сільськогосподарських культур, відновлення родючості ґрунтів. ГВОМО Чорного моря, які представлені сапропелевими, коколітовими та діатомовими мулами, глибоко вивчаються в останні роки переважно для використання їх як комплексної сировини для сільського господарства [1–3, 14–16, 18]. Впровадження комплексних добрив на основі ГВОМО Чорного моря є важливим як для забезпечення сільськогосподарських культур макро- та мікро-

елементами, так і для постачання комплексних добрив на ринок України за прийнятною для агровиробників ціною.

Сумісне застосування протизлакових та протидводольних гербіцидів одночасно з елементами живлення є важливою складовою сучасних технологій вирощування зернових колосових культур [5–7, 13]. Відомо, що фон мінерального живлення є важливим фактором, який визначає ефективність застосування гербіцидів. В той же час, відомості про вплив елементів мінерального живлення та органічних добрив (сапропелів) при додаванні до розчинів для обприскування на фітотоксичність гербіцидів недостатні або суперечливі [5–9, 12–13, 18–25]. Відомо зниження ефективності дії гербіцидів за одночасного позакореневого застосування із органічними добривами. Також на важких ґрунтах з високим вмістом органічних речовин застосовують підвищені дози ґрунтових гербіцидів [5–7, 9, 13]. В той же час, питання сумісного позакореневого застосування ГВОМО та гербіцидів на посівах пшениці відносяться до малодосліджених.

Тому, метою нашої роботи було дослідити можливість сумісного застосування сапропелів ГВОМО Чорного моря і гербіцидів Аксіал та Дербі при позакореному підживленні на посівах озимої пшениці високопродуктивного сорту.

Матеріали та методи

Польові дослідження проводилися на базі дослідного сільськогосподарського виробництва Інституту фізіології рослин і генетики НАН України в смт. Глеваха Васильківського району Київської обл. у 2008–2011 роках.

Об'єктом досліджень був короткостебловий сорт озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) Смуглянка (PP-1).

Досліди проводили на темно-сірому опідзоленому ґрунті, піщано-легкоуглинковому за механічним складом. Вміст гумусу становив 1,8%, pH 5,6.

Протягом вегетації обробляли рослини гербіцидами Аксіал та Дербі у дозі 1 л/га та 0,070 л/га відповідно, у фазу прапорцевого листка. Доза Дербі визначалася необхідністю пригнічення осотів. Зразки рослин для аналізу відбирали у фазу цвітіння. Проводили підживлення рослин та фенологічні спостереження. Фосфорне і калійне добриво вносили у вигляді монокалійфосфату й сульфату калію, азот — у формі аміачної селітри, а у генеративну фазу — у формі сечовини, мікроелементи у формі Брексилу мікс зернової компанії Валагро.

Отримані дані аналізували згідно стандартних методик [5, 11–12] за допомогою професійного пакету програм для статистичного аналізу SPSS та за допомогою програми Excel.

Результати дослідження впливу внесення добрив на урожай і якісні показники зерна визначали на приладі Inframatik 8600 фірми Perten (Швеція).

Результати та обговорення

При дослідженні впливу ГВОМО на активність гербіцидів Дербі та Аксіал у посівах озимої пшениці сорту Смуглянка встановили, що орґано-

мінеральні відклади Чорного моря не знижують активність протидводольних та протизлакових гербіцидів (табл. 1).

Активність грамініциду Аксіал залишалася на високому рівні і проти злакових бур'янів у генеративній фазі розвитку. Ефективність Дербі проти підмаренника не залежала від присутності у робочому розчині ГВОМО. Також на середньому рівні залишалася дія протидводольного гербіциду проти осотів. Як застосований окремо, так і у сумішах з грамініцидом та добривом, Дербі ефективно пригнічував розвиток *Cirsium arvense* L., але рослини осотів залишалися у нижньому ярусі посіву пшениці.

Таким чином, доцільне одночасне застосування позакоренево у баковій суміші Аксіалу, Дербі та сапропелю на посівах озимої пшениці.

Результати дослідження впливу кореневого та позакореневого внесення добрив на урожай та на якісні показники зерна озимої пшениці сорту Смуглянка наведені у табл. 2.

Таблиця 1

Вплив сапропелів Чорного моря на фітотоксичність гербіцидів Дербі та Аксіал у посівах озимої пшениці сорту Смуглянка

Варіант	<i>Galium aparine</i> (L.)	<i>Centaurea cyanus</i> (L.)	<i>Cirsium arvense</i> (L.)	<i>Apera spica-venti</i> (L.)	<i>Setaria viridis</i> (L.)
	Кількість рослин на м ²				
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀ S ₁₀	18±7	5±4	19±3	35±9	14±5
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀ S ₁₀ + Сапропель, 10 кг	19±7	7±4	19±4	37±7	15±4
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀ S ₁₀ + Аксіал, 1 л/га	—*	—	—	2±1	0
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀ S ₁₀ + Дербі, 0,070 л/га	0	1±1	3±1	—	—
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀ S ₁₀ + Аксіал, 1 л/га + Дербі, 0,070 л/га	0	0	3±2	1±1	0
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀ S ₁₀ + Сапропель, 10 кг + Аксіал, 1 л/га	—	—	—	2±1	0
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀ S ₁₀ + Сапропель, 10 кг + Дербі, 0,070 л/га	0	0	2±1	—	—
N ₉₀ P ₆₀ K ₆₀ S ₁₀ + Сапропель, 10 кг + Аксіал, 1 л/га + Дербі, 0,070 л/га	0	0	3±2	1±1	0

Примітка: * — тут і далі дія проти даного виду бур'яну неефективна.

Таблиця 2

Вплив кореневого та позакореневого внесення добрив сумісно з гербіцидами на урожай, вміст білка і клейковини в зерні озимої пшениці сорту Смуглянка

Варіант	Урожай, ц/га	Вміст білка, %	Вміст клейковини, %
$N_{90}P_{60}K_{60}S_{10}$	43,8	20,1	43,6
$N_{90}P_{60}K_{60}S_{10}$ + Сапропель, 10 кг	58,8	20,3	44,1
$N_{90}P_{60}K_{60}S_{10}$ + Актіал, 1 л/га	48,8	20,3	43,8
$N_{90}P_{60}K_{60}S_{10}$ + Дербі, 0,070 л/га	54,1	20,3	44,1
$N_{90}P_{60}K_{60}S_{10}$ + Актіал, 1 л/га + Дербі, 0,070 л/га	54,1	20,3	44,1
$N_{90}P_{60}K_{60}S_{10}$ + Сапропель, 10 кг + Актіал, 1 л/га	59,7	20,4	44,1
$N_{90}P_{60}K_{60}S_{10}$ + Сапропель, 10 кг + Дербі, 0,070 л/га	62,2	20,4	44,2
$N_{90}P_{60}K_{60}S_{10}$ + Сапропель, 10 кг + Актіал, 1 л/га + Дербі, 0,070 л/га	68,0	20,6	44,8
$НІР_{05}$	4,5	0,5	1,1

Як свідчать вище наведені дані, застосування ГВМО Чорного моря перспективно для підвищення урожайності та покращення якості продукції. Завдяки високому вмісту елементів живлення у ГВМО (вміст елементів в осадових відкладах розглядається у роботі [16]), доцільним є їх застосування для покращення також і елементного складу урожаю. Поділ дози сапропелю та його внесення протягом весняно-літнього періоду призводить до підвищення ефективності внесення органічного добрива [16].

Вважаючи на складні посушливі погодні умови в останні роки, внесення ГВМО можна вважати фактором стабілізації врожайності культури за умов змін клімату, насамперед за умов підвищення його аридності.

Отримані результати свідчать, що в умовах польового дослідження сапропель є важливим елементом системи живлення культури та можуть підвищувати ефективність використання добрив фону мінерального живлення у посівах озимої пшениці сорту Смуглянка.

Таким чином, комплексні органо-мінеральні добрива на основі ГВМО Чорного моря можуть бути факторами забезпечення високих врожаїв сільськогосподарських культур, відновлення родючості ґрунтів та зниження вартості добрив на ринку України.

Висновки

В умовах польових дослідів встановлено високу ефективність застосування сапропелів в якості добрив. Аналіз структури врожаю продемонстрував позитивну дію сапропелю на подовження вегетації озимої пшениці, на кількість продуктивних пагонів і масу зерна. Виявлено, що внесення ГВМО у дозах до 10 кг/га не впливає на фітотоксичність гербіцидів до основних видів бур'янів у посівах озимої пшениці.

Досліджено, що застосування сапропелів є шляхом удосконалення системи мінерального живлення (обробка насіння, збалансовані системи живлення — гранульовані добрива на основі сапропелів, добрива для позакореневого внесення) для підвищення ефективності використання макро- та мікроелементів рослинами озимої пшениці.

Встановлено, що осади Чорного моря (сапропелі) можуть бути ефективними компонентами комплексних систем живлення та захисту посівів культурних рослин. Їх застосування може бути доцільним для обробки насіння, кореневого живлення, створення нетоксичних для культурних рослин робочих розчинів агрохімікатів, біофортифікації.

Література

1. Блохіна Т. С. Сапропелєві мули Чорного моря (речовинний склад, властивості, генезис та перспективи використання // Автореф. канд. дис. — К.: 1994. — 24 с.
2. Дегодюк Е. Г., Клещенко С. А., Дегодюк С. Е., Черній Н. В., Юшин О. О. Агрономічна цінність сапропелєвих і коколітових мулів Чорного моря та питання техногенної безпеки // Геологія Чорного і Азовського морей. — 2000. — С. 164–174.
3. Дегодюк С. Е., Чернищенко І. І., Блохіна Т. С. Донні осади — резерв органічної речовини для потреб землеробства // Збірник наукових праць Інституту землеробства УААН. — К., 1997. — Вип. 1. — С. 115–117.
4. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М.: Агрохимиздат, 1985. — 351 с.
5. Мережгинский Ю. Г. Биохимия действия гербицидов при комплексном применении // Физиология и биохимия культ. растений. — 1971. — 3, вып. 4. — С. 339–349.
6. Мережгинський Ю. Г., Мордерер Є. Ю. Гербіциди. Механізми дії та практика застосування. — К.: Логос, 2009. — Т. 1. — 379 с.
7. Моргун В. В., Санін Є. В., Швартау В. В., Омеляненко О. А. Клуб 100 центнерів. Сорти та технології вирощування високих урожаїв озимої пшениці // К.: Логос, 2011. — 124 с.
8. Моргун В. В., Швартау В. В., Кірізій Д. А. Фізіологічні основи формування високої продуктивності зернових злаків // Фізіологія рослин: проблеми та перспективи розвитку. — К.: Логос, 2009. — Т. 1. — С. 11–42.
9. Николов Н., Колев Т. Выращивание твердой пшеницы на кислых почвах (planosol), с применением черноморских глубоководных органо-минеральных осадков // Геология и полезные ископаемые Мирового океана. — 2011. — № 1 (23). — С. 41–44.
10. Радов А. С., Пустовой И. В., Корольков А. В. Практикум по агрохимии. — М.: Агрохимиздат, 1985. — 312 с.
11. Федоренко Ю. П., Швартау В. В. Применение метода индукции флуоресценции для исследования фитотоксичности гербицидов при изменении фона минерального питания // Физиология и биохимия культ. растений. — 1987. — 19, № 6. — С. 553–557.
12. Федтке К. Биохимия и физиология действия гербицидов. — М.: Агропромиздат, 1985. — 223 с.
13. Швартау В. В. Гербіциди. Основи регуляції фітотоксичності та фізико-хімічні і біологічні властивості. — К.: Логос, 2009. — Т. 2. — 1046 с.

14. Шнюков Е. Ф., Клещенко С. А., Куковская Т. С. Сапропелевые илы Черного моря — новый вид минерального сырья // Геология и полезные ископаемые Черного моря. — К., 1999. — С. 399–411.

15. Шнюков Е. Ф., Коболев В. П., Кузнецов А. С., Емельянов В. А. и др. Проблема сапропелей Черного моря. — Изд. ГНУ ОМГОР. — Киев. — 2010. — 140 с.

16. Шнюков Е. Ф., Моргунов В. В., Смельянов В. О., Швартау В. В., Куковська Т. С., Михальська Л. М. Глибоководні органо-мінеральні осади Чорного моря як перспективна сировина для виготовлення нових комплексних добрив // Геология и полезные ископаемые мирового океана. — 2011. — № 1 (23). — С. 20–32.

17. Baxter I. R., Vitek O., Lahner B., Muthukumar B., Borghi M., Morrissey J., Gueriot M. L., Salt D. E. The leaf ionome as a multivariable system to detect a plant's physiological status // PNAS. — 2008. — **105**. — P. 12081–12086.

18. Dimitrov P. S., Nikovov N., Dimitrov D., Petrov P. Application of Black sea bottom sediments for national ecological fertilizer, recultivation of exhausted soils // Geology and mineral resources of the Black sea. — Kyev, 1999. — P. 182–188.

19. Georgiev G. Biological products with growth regulatory and pesticide properties // Bulletin BAS, Sofia, 2005. — **11**, **9**. — P. 25.

20. Mayer J. E., Pfeiffer W. H., Beyer P. Biofortified crops to alleviate micronutrient malnutrition // Current Opinion in Plant Biology. — 2008. — **11**. — P. 166–170.

21. Nikolov N., Dimitrov D. Reducing the Accumulation of Lead, Zinc and Cadmium from «Triticale» Crop by Calcaric Luvisol, Using Black Sea Sapropelles // Bulg. Journal of Agr. Science, Sofia. — 2011. — **17**, № 3. — С. 364–367.

22. Rea P. A. Ion genomics // Nat. Biotechnol. — 2003. — **21**. — P. 1149–1151.

23. Salt D. E. Update on ionomics // Plant Physiology. — 2004. — **136**. — P. 2451–2456.

24. Salt D. E., Baxter I., Lahner B. Ionomics and the study of the plant ionome // Annual Review of Plant Biology. — 2008. — **59**. — P. 709–733.

25. Schachtman D. P., Shin R. Nutrient sensing and signaling: NPKS // Annu. Rev. Plant Biol. — 2006. — **58**. — P. 47–69.

Резюме

Встановлено вплив сапропелів Чорного моря сумісно з макро- та мікроелементами і гербіцидами на формування врожаю озимої пшениці сорту Смуглянка, підтверджена їх ефективність в складі комплексних добрив. Досліджено можливість використання глибоководних органо-мінеральних осадів Чорного моря в якості елементів живлення в технологіях вирощування високої та якісної врожаїв озимої пшениці та інших культур.

Установлено влияние сапропелей Черного моря вместе с макро- и микроэлементами и гербицидами на формирование урожая озимой пшеницы сорта Смуглянка и подтверждена их эффективность в составе комплексных удобрений. Установлена возможность использования глибоководных органоминеральных осадков Черного моря в качестве элементов питания в технологиях выращивания высоких и качественных урожаев озимой пшеницы и других культур.

The influence of the Black sea sapropels coupled with macro- and micronutrients and herbicides on forming harvest of winter wheat (variety «Smuglanka») is set. According to preliminary results of the research, their effectiveness in complex fertilizers (in terms of experimental agricultural production) is confirmed. It is assumed the use of Black Sea sediments in the nutrition technology to grow high quality and yield of winter wheat and other crops.

¹ МОСКАЛЕЦЬ В.І., ² МОСКАЛЕЦЬ В.В., ² МОСКАЛЕЦЬ Т.З.

¹ Державне підприємство «Дослідне господарство

Носівської селекційно-дослідної станції Чернігівського ІАПВ НААНУ»,
Україна, 17131, с. Дослідне, Носівський р-н., Чернігівська обл., вул. Миру, 42

² Білоцерківський національний аграрний університет,

Україна, 09111, м. Біла Церква, Київська обл., вул. Героїв Чорнобіля, 3,

e-mail: valentine_moskalets@rambler.ru

ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ ТРИТИКАЛЕ ОЗИМОГО ГЕКСАПЛОЇДНОГО РІВНЯ

Пошук, відбір і створення вихідного матеріалу базується в успішній селекції рослин. Першим вихідним матеріалом стали відібрані самою природою форми рослин, які є адаптованими певних екотопів, мають велике значення для селекції. Проте поряд із генетичним матеріалом місцевої селекції, повинен використовуватися й світовий, оскільки в основі селекції покладене використання світової колекції як вихідного матеріалу для підбору батьківських форм. В гібридних популяціях, які отримані в результаті схрещування віддалених еколого-географічних груп, спостерігається трансгресія за врожайністю на відміну від гібридів споріднених форм. А нині необхідні як високоврожайні, високоякісні сорти, так й еколого-адаптивні, резистентні до хвороб і шкідників та інших екологічних факторів у різних екологічних нішах. Одне з основних завдань сучасної селекції полягає в підвищенні загальної та специфічної екологічної адаптивності, пластичності культурних рослин за рахунок селекційного комбонування генотипів із високою потенційною продуктивністю та резистентністю до несприятливих факторів середовища.

Динамічне зростання посівів тритикале озимого в Україні відбувається завдяки таким пріоритетам, як висока врожайність, підвищена стійкість до хвороб, низька чутливість до несприятливих ґрунтових умов, низька собівартість виробництва зерна (порівняно з пшеницею), а також висока кормова цінність. Збір та збереження генетичного різноманіття рослин має виключно важливе значення як для окремої країни, так і для людства в цілому. Реалізація селекційних програм, кінцевою метою яких є в першу чергу вирішення продовольчих, загальноекономічних і навіть соціальних проблем, неможливе без надійних джерел вихідного матеріалу, якими є банки генетичних ресурсів рослин. Колекції генетичних ресурсів мають важливе наукове та освітньо-пізнавальне значення. В зв'язку з цим роботи по збору, збереженню, вивченню та забезпеченню ефективного використання колекцій генетичних рослинних ресурсів є пріоритетними проблемами рослинництва [1, 2]. В Україні питаннями щодо залучення нових зразків тритикале та їх карантинною перевіркою, збереження колекційного матеріалу в живому стані, всебічного вивчення колекцій, виділення джерел і донорів цінних ознак, розмноження насіння для закладки на середньострокове збе-

рігання в Національне сховище, забезпечення селекційних установ України та інших країн цінним вихідним матеріалом та інформацією про нього займаються в Національному центрі генетичних ресурсів рослин України, на Устимівській дослідній станції рослинництва Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН та інших установах. Питаннями щодо створення та відбору господарсько-цінних донорів тритикале — Миронівський інститут пшениці ім. В. М. Ремесла НААН, Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннєзнавства та сортівивчення НААН, ННЦ «Інститут землеробства НААН» та інші. Отже, проблема вихідного матеріалу є особливо актуальною.

Мета досліджень: сформувати вихідний матеріал озимого тритикале з добре вираженими еколого-адаптивними властивостями та високими кількісними та якісними показниками урожаю зерна; показати здатність сортотразків протистояти негативним абіотичним, біотичним і антропогенним факторам навколишнього середовища для подальшої селекційної роботи.

Матеріали і методи

Селекційна робота щодо створення та вивчення вихідного матеріалу озимого тритикале проводилася на базі Носівської селекційної дослідної станції Чернігівського інституту агропромислового виробництва (Носівська СДС ЧІАПВ) розпочинаючи з 1992 р. Схема селекції тритикале передбачала: а) селекційне пророблення популяцій тритикале шляхом: проведення перших відборів в F_2 створених гібридних популяцій за умови достатньої кількості популяцій; проведення відборів в F_3 тих популяцій, малий розмір яких не дозволяв провести відбори в F_2 ; проведення повторних відборів у лініях, що розщеплюються, селекційного розсадника (F_3 – F_4) і контрольний розсадники (F_4 – F_5); закладка насінницьких розсадників 1-го і 2-го року за перспективними константними лініями, не чекаючи їхньої передачі в Держсортвипробування; б) широке комплексне вивчення перспективних ліній, що включало: екологічне випробування за умов дослідної станції; оцінка на морозостійкість та посухостійкість за різних строків сівби та попередників; контроль за вмістом білка й клейковини в зерні та білка в зеленій масі тритикале; оцінка реакції ліній на хвороби — борошнисту росу, вірусні захворювання, кореневі гнилі, септоріоз, фузаріоз колоса — згідно з загальноприйнятою методикою [3]; оцінка реакції ліній на основні елементи агротехніки — норми й строки сівби, попередники і добрива. Досліди закладали за загальноприйнятою методикою [4]. Загальна площа дослідної ділянки в дрібноділянкових посівах, в період проведення досліджень, складала — 12, облікова — 10 м², у виробничих — 1,0–5,0 га і 0,5–4,0 га, відповідно; розміщення ділянок — рендомізоване, повторність дослідів — шестиразова. Впродовж вегетаційного періоду на варіантах дослідів проводили фенологічні спостереження із зазначенням дат і фаз вегетації, підрахунки густоти стояння рослин (після з'явлення повних сходів і перед збиранням урожаю), визначали перезимівлю рослин озимого тритикале, польову

схожість, аналіз структури рослин і їх продуктивність, обліковували урожай, визначали посівні якості насіння, вивчали процес їх формування, тривалість вегетаційного періоду рослин і стійкість до хвороб. Ґрунт — чорнозем вилугуваний малогумусний легкосуглинковий. Попередниками озимої пшениці були однорічні злаково-бобові травосумішки на зелений корм. Технологія вирощування була загальноприйнятою. Визначення кількісних параметрів якісного складу зерна проведено методом корелятивної інфрачервоної спектроскопії у ближній ІЧ-області спектра за допомогою аналізатора NIR-4500; математично-статистичне обрахування даних — за Доспеховим [5] та комп'ютерних програм — Excel і Statistica 6,0.

Результати та обговорення

Селекційна робота з озимим тритикале на Носівській СДС ЧІАПВ УААН розпочата в 90-ті рр. В 1994 р. на державне сорто випробування були передані сорти Августо, Ягуар і Еллада, які, за даними центральної лабораторії з ідентифікації сортів рослин, не мали подібних аналогів в Україні за урожайністю та якісними показниками зерна. В цьому ж році на Козелецькій сортодільниці (Чернігівська обл.) за показниками урожайності сорт Августо займав перше місце серед десятків інших і перевищував національні стандарти — АД 3/5 і АД 60 на 1,4–0,7 т/га. В 1995 р. сорт тритикале залишався лідером серед інших, проте 1997 р., разом із сортами Ягуар і Еллада, був знятий із сорто випробування внаслідок слабкої перезимівлі. У зв'язку з тим, у селекційних схрещуваннях були задіяні стійкі до понижених температур гібриди тритикале з Устимівської ДС (Полтавська обл.): № 1318/93, № 1364/93, із залученням зразка колекції ВІРУ К-9844. 1993 р. були одержані гібридні комбінації рослин тритикале: Ягуар х № 1364/93; (Августо х Ягуар) х № 1364/93; Августо х Ягуар, які характеризувались високою морозо- та зимостійкістю. Серед цих гібридів у селекційному розсаднику першого року четвертого покоління відібрано лінії, більш стійкіші до несприятливих умов перезимівлі. У 1997 р. серед гібридних комбінацій виділились константні форми з характерними еколого-адаптивними властивостями: висока продуктивність, стійкість до поширених хвороб зернових культур, морозо- та зимостійкість. Температура повітря в роки виділення цих форм тритикале становила мінус 25–30 °С упродовж 8–10 діб, а ґрунту на глибині залягання вузла кущіння — мінус 20 °С. Ці форми тритикале вивчали в селекційних розсадниках до 2004 р., з одночасним розмноженням кращих ліній на насіння. В результаті чого було створено цінний вихідний матеріал: Пшеничне, Чайн.

Озиме тритикале Чайн — константна лінія, гексаплоїд, різновидність — *erytrorubid*, середньостиглий, родовід — F₃ (Августо х Ягуар) х К-9844/93, метод створення — індивідуальний відбір. Авторі: Москалець В. І., Москалець В. В., Москалець Т. З. та ін. Ознаки ідентифікації зразка, що зумовлюють його відмінність: кущ напіврозлогий, розкущений, листя темно-зеленого кольору, колос довжиною 12–14 см, червоно-білого ко-



Рис. 1. Колос, прапорцевий листок тритикале озимого Чаян

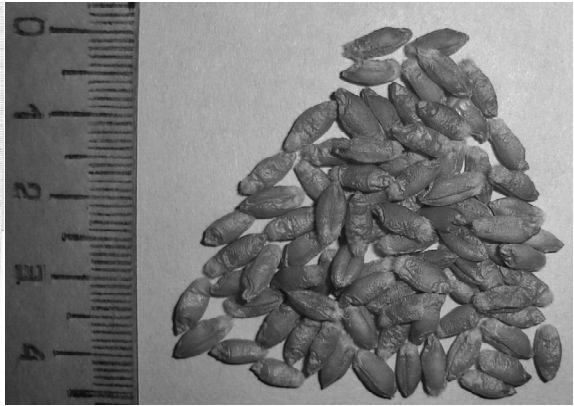


Рис. 2. Зерно тритикале озимого Чаян

льору, остистий, веретеноподібний, щільний, неламкий, багатоквітковий. Зернівка середньої величини, червона (рис. 1, 2). Зареєстрований під номером — UA 0602436 Національним центром генетичних ресурсів рослин України (авторське свідоцтво № 520). Константна лінія виділена за ознаками високої продуктивності, виповненості зерна, пшеничного типу розвитку рослин, короткостебловістю, стійкістю до основних хвороб хлібних злаків, морозо- та зимостійкістю, посухостійкістю, позитивною реакцією на передпосівну інокуляцію насіння мікробними препаратами. Господарсько-цінні властивості лінії такі: вегетаційний період — 289–318 діб, висота рослини — 100–120 см, урожайність — 7,5–8,5 т/га, маса зерна з колоса — 1,8–2,4 г, кількість зерен у колосі — 46–52 шт., маса 1000 зерен — 38,5–42,5 г, вміст клейковини — 26,0–36,0, білку — 13,0–15,5%; натура зерна — 750–800 г/л; стійкість до фузаріозу колосу, бурі листової іржі, борошнистої роси, кореневої гнилі — 9,0, до септоріозу листя — 5 балів; стійкість до абіотичних (зимо-, холодо-, посухо-, жаростійкість, стійкість до вилягання — 9,0 балів.

Константна лінія Пшеничне виділена з гібридної комбінації [Августо x NE 312] x K 9844 за такими ознаками: короткостебелівність, зимостійкість, посухостійкість, стійкість до вилягання, фузаріозу колосу, септоріозу листя, висока урожайність та якість зерна (7,0 т/га і вміст білка — 15%) (рис. 3 і 4). Ця лінія пшеничного типу розвитку, гексаплоїд, належить до різновидності — *erythroalbum*, скоростиглий (фаза колосіння розпочинається в ті ж самі строки, що й у озимій пшениці сорту Донська напівкарликова). Кушч напіврозлогий, відзначається середньою кушчистістю — кіль-



Рис. 3. Колос, прапорцевий листок, стебло лінії озимого тритикале Пшеничне



Рис. 4. Зерно озимого тритикале Пшеничне

кість продуктивних стебел 3 шт., зокрема в загущених посівах формує 1–2 на рослину, зріджених — понад 4 шт. Фоліарний апарат представлений середніми, ланцетоподібними пластинками, прапорцевий листок — прямостоячий, довжиною — 10–15 см, шириною до 1,8 см, без воскового нальоту, зеленувато-салатового кольору. Колос білий, остистий (ості прямі, довгі, нерозгалужені), пірамідальний, щільний, довжиною — 14–18 см, неламкий, багатоквітковий — 3–4 шт. Стебло міцне, потовщене під колосом, висотою до 100 см. Зернівка середньої величини, виповнена, гладенька, червона, з добре розвиненим чубом, велика, з масою 1000 шт. — 49–52 г, довжина її — 7–9 мм, ширина — до 3 мм, пшеничного типу розвитку. Отже, нові константні лінії озимого тритикале — Чаян і Пшеничне є цінним вихідним матеріалом для подальшої селекції та перспективним щодо включення їх до структури агрофітоценозів Полісся та Лісостепу України.

Висновки

Проаналізовані господарські, морфологічні та екологічні особливості константних ліній озимого тритикале Носівської СДС Чернігівського ІАПВ під назвою Чаян і Пшеничне, які характеризується високою регенераційною здатністю та стійкістю до низки абіотичних і біотичних факторів навколишнього середовища, високими кількісними та якісними показниками урожаю зерна. Показано, що константна лінія Чаян виділена за такими

ознаками як: висока кущистість — кількість стебел 4–5 шт., в загущених посівах 2–3 шт./рослину, зрідених — понад 7–8 шт.; кількість колосків — 28–32 шт.; крупнозерність (маса 1000 зерен — 45–48 г); урожайність — 7,5–8,5 т/га; вміст клейковини в зерні — 26,0–29,2%, білку — 14,5–15,0%; стійкість до борошнистої роси, гельмінтоспориозу — 9 балів, до морозів, вилягання, умов перезимівлі, посухи — 9 балів. Лінія Пшеничне виділена за такими ознаками як: скоростиглість (фаза колосіння розпочинається разом із Донською н/к); середня кущистість — кількість продуктивних стебел 3 шт.; прямостоячий прапорцевий листок; міцне стебло й потовщене під колосом; зеленувато-салатового кольору наземна маса; крупнозерність (маса 1000 зерен — 49–52 г); урожайність — 6,0–7,0 т/га; вміст «сирої» клейковини в зерні — 28,5–33,1%, білку — 13,5–15,5%; стійкість до борошнистої роси, гельмінтоспориозу — 9 балів, до морозів, вилягання, посухи — 9 балів; умов перезимівлі — 8 балів.

Література

1. Кір'ян В. М. Генетичні ресурси пшениці Устимівської дослідної станції рослинництва як основа селекційного процесу // Наукові праці ПДАА. — Полтава, 2005. — Том 4 (23). — С. 40–43.
2. Кір'ян В. М. Генетичні ресурси рослин Устимівської дослідної станції рослинництва // Генетичні ресурси для адаптивного рослинництва: мобілізація, інвентаризація, збереження, використання. Результатами міжнародній науково-практичній конференції. — Оброшино, 2005. — С. 15.
3. Гешеле Э. Э. Методическое руководство по фитопатологической оценке зерновых культур. — Одесса, 1971. — С. 36–59.
4. Методика державного сортовипробування сільськогосподарських культур (зернові, круп'яні та зернобобові культури); Під ред. В. В. Волкодава. — К., 2002. — Вип. 2. — С. 64–66.
5. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1968. — С. 246–276.

Резюме

Надано характеристику новоствореним константним лініям тритикале озимого, які характеризуються високими показниками урожайності та якості зерна, регенераційної здатності та стійкості до низки екологічних факторів навколишнього середовища. На основі ліній Чаян і Пшеничне створено нові сорти тритикале озимого — ДАУ 5 та Вівате Носівський.

Представлена характеристика новообразованным константным линиям озимого тритикале, которые характеризуются высокими показателями урожайности и качества зерна, регенерационной способностью и стойкостью к ряду экологических факторов окружающей среды. На основе линий Чаян и Пшеничне созданы высокопроизводительные и адаптивные сорта тритикале озимого — ДАУ 5 и Вивате Носивский.

The is given characteristic neogenic constant lines winter triticale which are allocated by high indicators of productivity and quality of grain, by ability to heal and firmness to a number of ecological factors of environment. Based on the lines Chayan and Pshenichne created high-performance and adaptive varieties of winter triticale — DAU 5 and Vivante Nosivsky.

НЕНЬКО Н. И., КИСЕЛЕВА Г. К., СХАЛЯХО Т. В.

*Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский институт садоводства и виноградарства, Россия, 350901, Краснодар, ул. 40-летия Победы, 39,
e-mail: kubansad@kubannet.ru*

ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ К ЗАСУХЕ ТЕХНИЧЕСКИХ СОРТОВ ВИНОГРАДА В АНАПО-ТАМАНСКОЙ ЗОНЕ

Анапо-Таманская зона Краснодарского края по природно-климатическим условиям в целом благоприятна для возделывания винограда, что позволяет получать высокие урожаи ягод с высокими потребительскими качествами, но относится к зоне недостаточного увлажнения. В связи с этим актуальным является выявление засухоустойчивых сортов, более адаптированных к условиям возделывания [1].

Цель настоящих исследований — провести оценку степени засухоустойчивости технических сортов винограда по анатомо-морфологическим и физиолого-биохимическим параметрам для изучения адаптационных механизмов растений в условиях Анапо-Таманской зоны.

Материалы и методы

Наблюдения проводили в 2006–2011 годах в ампелографической коллекции Анапской зональной опытной станции виноградарства и виноделия (АЗОСВиВ, г. Анапа). Объектами исследований служили сорта винограда различных эколого-географических групп сортов селекции АЗОСВиВ и интродуцированных европейского происхождения (среднего срока созревания — Бархатный, позднего — Каберне Совиньон, Аг Чаграк) и межвидовые гибриды европейско-американской группы (раннего срока созревания Кристалл (евро-амуро-американский), Бианка, среднего — Достойный и Красностоп АЗОС и позднего — Первенец Магарача, Каберне АЗОС) технического назначения. Растения одного года посадки, подвой Кобер 5 ББ. Формировка — двусторонний высокоштамбовый спиральный кордон АЗОС. Возделывание на черном паре при схеме посадки 3 × 2,5 м.

Для оценки адаптационной устойчивости изучаемых сортов винограда к засухе определяли общую оводненность листьев, содержание свободной и связанной форм воды, пролина [2, 3]. Анатомо-морфологические исследования проводили в соответствии с общепринятой методикой с использованием светового микроскопа «Olympus BX 41» [4]. Полученные данные обрабатывали с помощью методов вариационной статистики [5].

Результаты и обсуждение

Метеорологические условия летнего периода 2006–2011 гг. различались по годам исследования. Так, в 2006 году отмечалась высокая влагообеспеченность (количество осадков до 157 мм) при температурах до 35,1 °С; 2011 год был жарким и засушливым. В июне и августе 2011 г. температура

воздуха достигала 30–31 °С, а в июле — 36 °С. При этом количество выпавших осадков в июне и июле составило 29–30 мм, а в августе — 6 мм.

Отклонение влагообеспеченности растений от оптимума, как правило, сопровождается изменениями физиологических процессов. У более засухоустойчивых растений при нарастающем обезвоживании дольше сохраняются синтетические процессы, не повреждаются или меньше повреждаются мембранные системы клеток, обеспечивающие их нормальный гомеостаз, сохраняются нормальные физико-химические свойства протоплазмы (вязкость, эластичность, проницаемость), больше выражены ксероморфные признаки анатомической структуры листа. Исследование содержания связанной формы воды и пролина (рис. 1) позволило выделить более засухоустойчивые сорта винограда. Из ранних технических сортов это Кристалл и Бианка, среднего срока созревания — Бархатный, Красностоп АЗОС, Каберне Совиньон, позднего срока созревания — Аг Чаграк и Первенец Магарача.

Динамика водного режима растений (по величине оводненности листьев и их водоудерживающей способности) изменялась в соответствии с погодными условиями вегетации. Водоудерживающая способность листьев в период вегетации имела тенденцию роста до конца июля (в среднем от 4 до 13 %) и снижения в августе (до 6–7 %) практически у всех сортов винограда.

Оводненность листьев, достаточно стабильный показатель, варьировала практически так же, как и водоудерживающая способность (в пределах

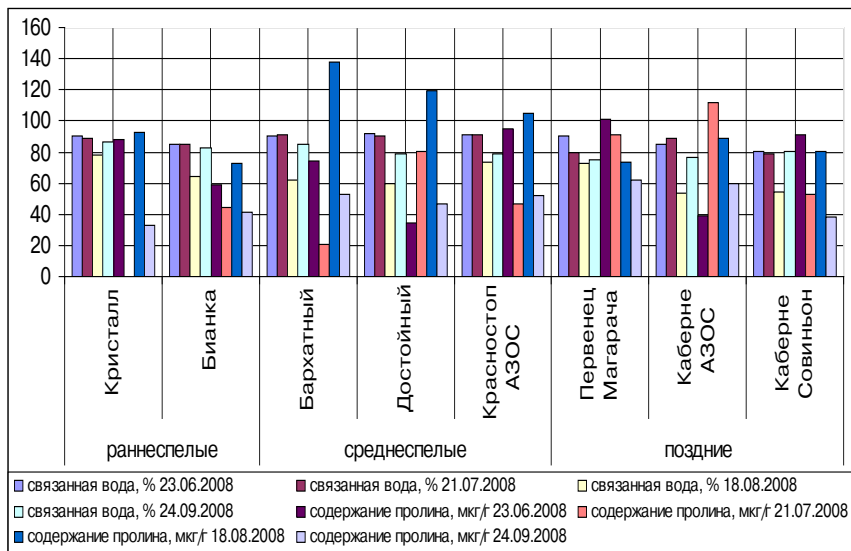


Рис. 1. Содержание связанной воды и пролина в листьях винограда

10%), причем наблюдалось стабильное снижение этого показателя с июня к августу (рис. 2).

Генетически обусловленным признаком засухоустойчивости растений является способность листьев накапливать во время засухи пролин. По содержанию пролина, отмечены различные тенденции его изменения у сортов среднего срока созревания, по сравнению с сортами раннего и позднего срока созревания. У сортов Бархатный, Достойный и Каберне АЗОС амплитуда колебаний пролина была значительно ниже по сравнению с остальными сортами.

У сортов Кристалл, Бианка, Каберне АЗОС, Каберне Совиньон в июле, когда наблюдались наиболее высокие температуры воздуха, отмечено резкое снижение содержания пролина, по-видимому, более интенсивно расходуемого на метаболические процессы, обеспечивающие повышение устойчивости растений к высокой температуре.

У сортов Бархатный, Первенец Магарача и Аг Чакрак в июле отмечалось увеличение содержания пролина в листьях и в августе у первых двух оно продолжало оставаться также на высоком уровне. Это свидетельствует о различных механизмах поддержания уровня обменных процессов в листьях сортов винограда.

Данные физиолого-биохимических исследований согласуются с результатами анатомо-морфологических исследований листовой пластинки (рис. 3).

Соотношение толщины палисадного и губчатого слоев, являющееся важным анатомо-морфологическим показателем, различалось у сортов. Из-

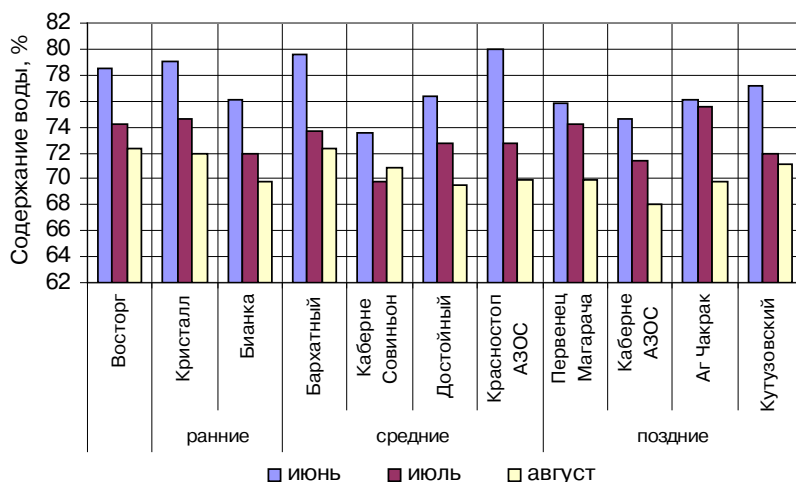
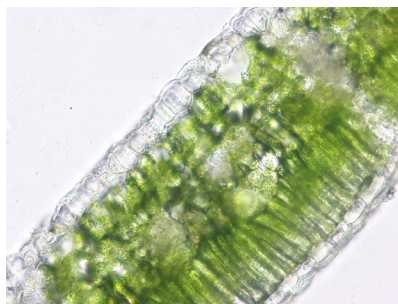


Рис. 2. Динамика оводненности листьев винограда в летний период.



Незасухоустойчивый
сорт Первенец Магарача



Засухоустойчивый
сорт Аг Чаграк

Рис. 3. Микрофото поперечного среза листовой пластинки различных по засухоустойчивости сортов винограда

вестно, что палисадная ткань наиболее приспособлена к процессу фотосинтеза, т. к. в ней сосредоточено основное количество хлоропластов, ее усиленное развитие способствует большей ассимиляционной продуктивности. Основная функция слоя клеток губчатой паренхимы — газообмен и транспирация. Характерной особенностью засухоустойчивых сортов является преобладание слоя палисадной паренхимы над слоем губчатой. Наибольшее преобладание слоя палисадной паренхимы над слоем губчатой отмечено у сортов Бархатный, Каберне АЗОС, Красностоп АЗОС, Аг Чаграк. Доля палисадного слоя от общей толщины листовой пластинки составляла у этих сортов 55,0–55,9%. Доля губчатого слоя от общей толщины листовой пластинки 38,3–38,5%.

У сортов Бархатный, Каберне АЗОС, Красностоп АЗОС, Аг Чаграк также выявлены и другие анатомические признаки ксероморфной структуры листа: больше толщина листовой пластинки, толще кутикула, меньше размер клеток мезофилла, что свидетельствует об их повышенной засухоустойчивости.

Выводы. Проведенные физиолого-биохимические и анатомо-морфологические исследования технических сортов винограда выявили наиболее адаптивные и устойчивые к засухе сорта винограда. Сорта Аг Чаграк, Красностоп АЗОС, Каберне АЗОС, Бархатный обладают повышенной адаптационной устойчивостью к засухе и выделены как перспективные для возделывания в условиях Анапо-Таманской зоны Краснодарского края.

Литература

1. Ненько Н.И., Ильина И.А., Схалыхо Т.В., Петров В.С., Кудряшова В.В., Запорожцев Н.М., Киселева Г.К. / Адаптационная устойчивость винограда в летний период // В сб.: «Высокоточные технологии производства хранения и переработки винограда»: межд. конф. 17–19 августа Краснодар, СКЗНИИСиВ. — С. 50–59.
2. Кушниренко М.Д. Водный обмен и продуктивность растений в связи с адаптацией к засухе. В сб.: Регуляция водного обмена растений. — К., 1984. — С. 9–13.

3. Захарова М. В., Ильина И. А., Лифарь Г. В., Якуба Ю. Ф. Методика определения массовой концентрации свободных аминокислот // Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству. — Краснодар: ГНУ СКЗНИИСиВ. — 2000. — С. 289–295.

4. Хржановский В. Г., Пономаренко С. Ф. Практикум по курсу общей ботаники. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Агропромиздат, 1989. — 416 с.

5. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). — М., 1985. — 332 с.

Резюме

Проведена оцінка різних сортів винограду на адаптаційну стійкість к засухі по фізіологічно-біохімічним і анатомо-морфологічним параметрам листової пластинки. Виявлені найбільш засухоустойчивые генотипы, перспективні для вирощування в умовах Анапо-Таманської зони.

Is carried out the estimation of different types of grapes to the adaptive stability to the drought with respect to the physiological biochemical and anatomist-morphological parameters of sheet plate. Are revealed the most drought-resistant genotype, promising for the cultivation under the conditions of Anapo-Taman zone.

ОВЕРЧЕНКО В. В., ШУЛЬГА В. М., АНІПІОВ І. О., МЕЛЬНИЧУК М. Д.

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
Україна, 03041, Київ, вул. Героїв Оборони, 15, e-mail: overv@i.ua

МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ВІРУСІВ ХМЕЛЮ (*HUMULUS LUPULUS* L.)

Протягом останніх років в агроценозах України виявлено понад 20 вірусів, що уражують хміль [1, 2]. Найбільш вірулентні відносяться до таких родів, як *Ilarvirus*, *Cuscutovirus*, *Nepovirus* та *Carlavirus*. Вони активно уражують хміль, що в свою чергу призводить до значних втрат врожаю та погіршення якості шишок хмелю. Одним із складних питань є взаємодія та рух вірусів в біоценозах, де існує багато зовнішніх факторів біотичної й абіотичної природи, які можуть змінювати властивості патогенів, що призводить до появи нових штамів. Відповідно вони можуть проявитися на рослині яскраво вираженими симптомами, або латентно. Також широке поширення фітовірусів обумовлюється великою кількістю рослин резервантів, які знаходяться поблизу плантацій і є накопичувачами вірусів. Існують й інші фактори, які забезпечують високу пластичність вірусів: переносники, температура, вологість, умови вирощування. Розвиток сільського господарства передбачає зниження втрат продукції від шкодоцинних патогенів, зокрема вірусної природи. Щоб виробити правильну стратегію боротьби з вірусними хворобами хмелю звичайного (*Humulus lupulus* L.) після культури *in vitro*, необхідно встановити якими саме вірусними патогенами він вражається, причини захворювань, визначити фактори, що негативно впливають на рослину, та виявити шляхи передачі й збереження вірусних патогенів в тих регіонах, де вирощуються рослини хмелю.

Вірусні хвороби визначаються перш за все по зовнішнім ознакам зараженої рослини. Відомо, що фітопатогенні віруси часто викликають такі симптоми, як міжжилкова мозаїка, скручування листя, пожовтіння (хлороз) [1]. Окрім зазначених симптомів на інфікованій рослині можуть з'являтися некротизація тканин, зміна кольору лусочок та інших органів. Розвиток локальних ушкоджень є проявом локалізації вірусу в цьому місці та фізіологічною реакцією рослини. Важливо зазначити, що віруси використовують системні комплекси організму (такі як провідні системи). Тому для швидкого поширення по рослині на значні відстані їм необхідно досягти флоєми, а звідти в ксилему, це сприяє системному зараженню всієї рослини [3, 4]. Особливістю швидкого розповсюдження вірусної інфекції на плантаціях хмелю є те, що вона поширюється набагато швидше ніж в плодово-ягідних культурах, і це призводить до швидкого зараження великих площ хмільників та значної втрати продуктивності [5]. Тому, з метою своєчасного виявлення та ідентифікації патогенів вірусної природи, на особливу увагу заслуговує питання створення та розробки діагностичних тест-систем. Подібний підхід необхідний для прогнозування розвитку вірусних хвороб та прийняття певних заходів боротьби з ними.

Основною метою наших досліджень було обстеження маточних насаджень сортів хмелю, що використовуються, як селекційні форми, промислові насадження та дикоростучі форми на предмет інфікування найбільш вірулентними вірусами що уражують хміль.

Матеріали і методи

Для діагностики та ідентифікації вірусів відбір зразків проводився протягом 2011 року з агроценозів Житомирської області. Для дослідження відбирали листки і стебла рослин хмелю, таких сортів з промислових плантацій Заграва та Національній. Сорт Національний був висаджений після культури *in vitro* методом прямої адаптації []. А також обстеження проводили колекційних сортів Інституту сільського господарства Полісся НААН України вітчизняної та зарубіжної селекції: Хелен Магнум, Ксанта, Нортен Бреберс, Клон 18, Клон 114, Аромат, Галена, Свальов. Відбирали також зразки з диких форм рослин хмелю.

Сумарну РНК виділяли за допомогою комерційного набору «Tryzol» згідно з рекомендаціями виробника. Дизайн праймерів для ПЛР проводили, аналізуючи консервативні нуклеотидні послідовності гена, що кодує білок оболонки цього вірусу, за допомогою програмного забезпечення «Primer3», реакцію зворотної транскрипції — за допомогою комерційного набору «Реверта-L-100» за рекомендацією виробника, а полімеразну ланцюгову реакцію — у реакційній суміші об'ємом 25 мкл, яка містила 1х ПЛР буфер з 1,5 мМ $MgCl_2$, 0,2 мМ дезоксинуклеозидтрифосфатів, 0,5 мкМ специфічних олігонуклеотидних праймерів, 10–50 нг матричної ДНК, 1 U Taq полімерази (Ампли Сенс). Полімеразну ланцюгову реакцію здійснювали в ампліфікаторі «GeneAmp 2400» (Applied Biosystems) за таких умов: по-

чаткова денатурація ДНК при температурі 94 °С — 5 хв, послідовні тридцять циклів: денатурації при температурі 94 °С — 30 с, відпалу праймерів при температурі 56 °С — 30 с, елонгації при температурі 72 °С — 30 с. Після проведення ПЛР продукти реакції розділяли електрофорезом у 1%-му агарозному гелі [6].

Результати і обговорення

Спостереження, обліки уражених рослин та відбір зразків проводили протягом вегетації — в травні, кінці червня та середині серпня. В рослинах хмелю, які були інфіковані вірусами виявлено зміни в габітусі: кущі були низькорослі, листки скручені з енаціями, шишки з листками, що проросло в них, зачепки на стеблах — редуковані. На уражених рослинах хмелю нами виявлено наступні вірусні симптоми: міжжилкова мозаїка (рис. 1, *а*) спостерігаються у вигляді світло-зеленого забарвлення листків, просвітленні міжжилкової пластинки. Листки стають ламкими, їх краї скручуються. За умов кільцевої та каймової мозаїк на листках хмелю з'являються жовто-зелені кільця та кайма. При хвилястій мозаїці утворюється дрібні листки, та скручуються донизу і вкриті мозаїчним буроватим малюнком. При ураженні рослин крапчастою мозаїкою характерна жовто-зелена плямистість у вигляді крапчастості; скручування листків хмелю (рис. 1, *б*): листки неправильної форми, зморшкуваті, молоді листки мають змінене світло-зелене забарвлення. Хворі рослини відставали в рості, не інтенсивно цвітуть, часто квітки всихають. На рослині утворюються тонкі пагони, які слабо заплітаються за підтримки. В умовах сильного ураження утворюються невеликі кількості дрібних шишок; вірусний хлороз з'являється на початку вегетації на листках у вигляді дрібних плямок або смужок світло-зеленого кольору, які пізніше охоплюють значну частину листової пластинки, при цьому листки деформуються (рис. 1, *в*).



Рис. 1. Основні типи вірусних симптомів на рослинах хмелю:
а — міжжилкова мозаїка хмелю; *б* — скручування листя хмелю; *в* — хлороз
листя хмелю

В процесі вегетації, нами виявлено, зниження кількості симптомних рослин, за умов візуального обстеження плантації. На нашу думку, це пов'язано з тим, що вірус може знаходитись в рослині у латентній формі. На всіх досліджених нами плантаціях найрозповсюдженішими були симптоми мо-

заїк, а скручування листків та енацій дещо поступалися. Ознаки симптому скручування листків хмелю з'являлися на початку вегетації, до середини вегетації вони підсилювалися, але в подальшому могли зникати і в фазі технічної стиглості їх можна було спостерігати тільки в значно уражених рослинах. Симптоми ж хлорозу, як правило, з'являлись тільки в червні і також підсилювалися до кінця вегетації. Візуальна діагностика вірусних хвороб хмелю не завжди дозволяє дійти висновку щодо вірусної природи патогену. Тому нами були розроблені молекулярно-біологічні тест-системи для діагностики та ідентифікації вірусів хмелю.

Для створення дизайну праймерів, специфічних до нуклеотидних послідовностей латентного вірусу хмелю (Hop latent virus), вірусу огіркової мозаїки (Cucumber mosaic virus), вірусу мозаїки яблуні (Apple Mosaic Virus), було проведено біоінформативний аналіз, першим етапом якого став скринінг консервативних послідовностей генів, що кодують білок оболонки відповідних вірусів за допомогою генетичного банку даних (GenBank). На підставі узагальнених даних щодо відомих нуклеотидних послідовностей вірусних геномів було виявлено специфічні консервативні нуклеотидні послідовності, які в подальшому використано як матрицю для олігонуклеотидних затравок у процесі синтезу вірусспецифічних фрагментів нуклеїнових кислот. Аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення «MultAlin» (Multiple sequence alignment). Використовуючи консенсусні нуклеотидні послідовності генів, що кодують білок оболонки зазначених вірусів, за допомогою програмного забезпечення «Primer3» було створено дизайн праймерів. Аналізуючи пари праймерів за GC-складом, встановлено, що вони знаходяться в оптимальному діапазоні, а продукти ампліфікації мають розміри для латентного вірусу хмелю — 427 п. н., вірусу табачної мозаїки — 347 п. н., вірусу огіркової мозаїки — 157 п. н., та вірусу мозаїки яблуні — 109 п. н. (рис. 2).

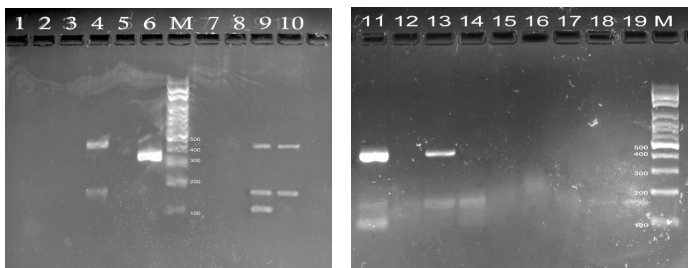


Рис. 2. Електрофоретичне розділення продуктів ЗТ ПЛР у 2% АГ продукти ампліфікації з сортів хмелю:

1 — Заграва, 2 — Національний, 3 — Національний, 4 — Заграва, 5 — Національний, М — маркер молекулярних мас GeneRule™ 100 bp DNA Ladder, 7 — Хелен Магнум, 8 — Ксанта, 9 — Клон 18, 10 — Нортен Бреберс, 11 — Дика форма, 12 — Клон 114, 13 — Заграва 1, 14 — Аромат, 15 — Галена, 16 — Свальов. 17 — Заграва*, 18, 19 — MQ

В результаті діагностики нами виявлено сорти хмелю, які уражені вірусами: Заграва (колекційні насадження) — *Cucumber mosaic virus/Hop latent virus*; Клон 18 — *Apple Mosaic Virus/Cucumber mosaic virus/Hop latent virus*; Нортен Бреберс — *Cucumber mosaic virus/Hop latent virus*; Дика форма — *Apple Mosaic Virus/Hop latent virus*; Заграва (промислові насадження) — *Cucumber mosaic virus/Hop latent virus*; Аромат — *Cucumber mosaic virus* (табл. 1).

Таблиця 1

Діагностика ураження сортів хмелю вірусами

№	Сорт	<i>Hop latent virus</i>	<i>Apple mosaic virus</i>	<i>Cucumber mosaic virus</i>	<i>Tobacco mosaic virus</i>
1	Заграва (<i>in vitro</i>)	—	—	—	—
2	Національний (<i>in vitro</i>)	—	—	—	—
3	Національний (<i>in vitro</i>)	—	—	—	—
4	Заграва	+	—	+	—
5	Національний	—	—	—	—
6	ВТМ				+
7	Хелен Магнум	—	—	—	—
8	Ксанта	—	—	—	—
9	Клон 18	+	+	+	—
10	Нортен Бреберс	+	—	+	—
11	Дика форма	+	+	—	—
12	Клон 114	—	—	—	—
13	Заграва	+	—	+	—
14	Аромат	—	—	+	—
15	Галена	—	—	—	—
16	Свальов	—	—	—	—
17	Заграва	—	—	—	—

Висновки

Розроблено молекулярно-біологічні тест-системи до найбільш вірулентних вірусів хмелю. Латентний вірус хмелю виявлений на сортах Заграва, Клон 18, Нортен Бреберс та дикий формі. Вірус огіркової мозаїки на сортах — Заграва, Клон 18, Нортен Бреберс та Аромат. Вірус мозаїки яблуні на сорті Клон 18 та дикий формі.

Література

1. Мельничук М.Д., Смирнова С.О., Кожукало В.Є., Оверченко В.В. Діагностика та ідентифікація вірусів хмелю (*Humulus lupulus* L.) новітньої української селекції // Бюлетень Інституту сільськогосподарської мікробіології. — 2000. — № 7. — С. 37–38.
2. Мельничук М.Д., Оверченко В.В., Дубін О.В. Діагностика латентного вірусу хмелю на сортах української селекції // Мікробіологічний журнал. — 2003. — Т. 65, № 4. — С. 43–50.

3. Мельничук М.Д. Патологические изменения клеток листьев хмеля под влиянием вирусной инфекции // Доклады НАН Украины. — 1996. — № 8. — С. 145–148.

4. Цыпленков А.Е. Изучение патогенности изолятов вируса огуречной мозаики. В сб.: Биологические методы защиты растений от вирусных и бактериальных заболеваний. — Л.: ВИЗР, 1986. — С. 49.

5. Polak I., Chod I. Serological detection and distribution of carlaviruses in Gzech hops // Res. Inst. of Crop. Prud. Annu. Rep. — Praha: Ruzyně, 1994. — P. 25.

6. Антипов І.О., Гринчук К.В., Кошель І.М. та ін. Розробка діагностичної тест-системи на виявлення вірусу огіркової мозаїки методом полімеразної ланцюгової реакції // Наукові доповіді НУБіП 2011–6 (28) http://www.nbu.gov.ua/e-journals/Nd/2011_6/11aio.pdf.

Резюме

Проведено діагностику деяких промислових та колекційних сортів хмелю на ураженість вірусами. Розроблено молекулярно-біологічні тест-системи для ідентифікації латентного вірусу хмелю, вірусу огіркової мозаїки і вірусу мозаїки яблуні.

Проведено діагностику некоторых промышленных и коллекционных сортов хмеля на пораженность вирусами. Разработаны молекулярно-биологические тест-системы для идентификации латентного вируса хмеля, вируса огуречной мозаики и вируса мозаики яблони.

Diagnostics of some industrial and collection hop sorts on staggered viruses is conducted. Biological test-systems molecular for identification of hop latent virus, cucumber mosaic virus and apple mosaic virus is developed.

**ОЖЕРЕДОВ С.П.¹, СПІВАК С.І.¹, ЛИТВИН Д.І.¹, ШВАРТАУ В.В.²,
ЄМЕЦЬ А.І.¹**

¹ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України»,
04123 Київ-123, Україна, вул. Осиповського 2 а, ozheredov@gmail.com

²Інститут фізіології рослин і генетики НАН України
03022, Київ, Україна, вул. Васильківська, 31/17

ПРОГРАМОВАНА КЛІТИННА ЗАГИБЕЛЬ У РОСЛИН ПІСЛЯ ОБРОБКИ ПОХІДНИМИ 2,6-ДИНІТРОАНІЛІНУ, ІНГІБІТОРАМИ АЦЕТИЛ-КОА-КАРБОКСИЛАЗИ ТА ЇХ КОМПОЗИЦІЯМИ

Одним із найважливіших чинників підвищення врожайності у сучасному рослинництві є підвищення ефективності технологій боротьби з бур'янами в посівах різних сільськогосподарських культур (Appleby et al., 2002; Hardy and Giaquinta, 2005). Як один із важливих напрямів вирішення цієї проблеми є розробка і застосування синергічних композицій різних типів гербіцидів, що дозволяє досягти значно кращого кінцевого результату (Ожередов и др., 2010; Zhang et al., 1995). При розробці і впровадженні нових композицій гербіцидів слід особливо враховувати той факт, що в умовах сучасного ринку продукції рослинництва в Україні особливе місце займає виробництво зерна. Саме тому на головне місце при розробці заходів

боротьби з бур'янами виходять ефективні системи їх знищення у посівах злакових культур. Відповідно, одним з найбільш актуальних питань є пошук, розробка та впровадження високоефективних систем боротьби саме зі злаковими бур'янами у посівах зернових колосових культур, зокрема озимої пшениці.

Як відомо, ефективність гербіцидних засобів боротьби з бур'янами базується, насамперед, на їх високій селективності, що досягається шляхом ураження певних клітинних мішеней, які з одного боку, притаманні всім рослинним організмам (ацетил-КоА-карбоксилаза, ацетолактатсинтаза, білки фотосистеми I та II та ін.), а з іншого, внаслідок еволюційного розходження, різняться за чутливістю в межах окремих таксономічних груп рослин (Hardy and Giaquinta, 2005). Широке застосування післясходових гербіцидів на основі інгібіторів ацетил-КоА-карбоксилази викликало появу значного інтересу до пошуку речовин, які здатні підвищити їх гербіцидну активність не впливаючи при цьому на їх селективність. На сьогоднішній день існує ряд робіт в яких показано можливість застосування похідних динітроанілінів як модифікаторів гербіцидної активності сполук інших класів хімічних сполук. Нещодавно нами були розроблені технологічні засади застосування синергічних сумішей гербіцидів на основі похідних 2,6-динітроаніліну та таких грамініцидів, як ариллоксифеноксипропіонати та фенілпіразоли (Ожередов та ін., 2011).

Метою даної роботи було з'ясування можливості індукції запрограмованої клітинної загибелі у рослин після обробки їх гербіцидними композиціями, створеними на основі комерційних грамініцидів з додаванням нових похідних 2,6-динітроаніліну.

Матеріали та методи

В дослідженнях використовували комерційні гербіциди Фуроре-супер, діюча речовина феноксопроп-*p*-етил (Bayer CropScience) та Фюзилад-форте, діюча речовина флуазифоп-*p*-бутил (Syngenta), Аксіал, діюча речовина піноксаден (Syngenta), а також динітроанілінові сполуки: трифлуралін (комерційний гербіцид трефлан (Dow AgroSciences)) і синтезовані раніше *N*-(2,4-динітрофеніл)-*орто*-амінобензойну кислоту (Br-14), *N*,*N*-диетил-2,6-динітро-4-(трифторметил)анілін (Br-15), *N*-(2,6-динітро-4-трифторметилфеніл)пропанол (Br-47) (Ожередов и др., 2010) та їх композиції. Здатність похідних динітроанілінів, інгібіторів ацетил-КоА-карбоксилази та їх композицій індукувати апоптотичні процеси визначали за такими показниками, як індукування клітинної загибелі, процесів ацидифікації цитоплазми та специфічної нуклеосомної фрагментації ДНК (Ожередов и др., 2010). Для цього чотириденні проростки ячменю та редьки обробляли протягом 24 год похідними динітроанілінів, інгібіторами АКК та їх композиціями у наступних концентраціях: трифлуралін, Br-14, Br-15 та Br-47 — $2,5 \times 10^{-5}$ М, піноксаден — $1,9 \times 10^{-6}$ М, феноксапроп-*p*-етил — $4,5 \times 10^{-6}$ М, флуазифоп-*p*-бутил — $9,0 \times 10^{-7}$ М. Як позитивний контроль використовув-

вали зразки, що були оброблені 0,15 М розчином H_2O_2 (Madeo et al., 2004; Samuilov et al., 2008).

Зразки аналізували за допомогою конфокального мікроскопу LSM 510 META. Обробку отриманих зображень проводили за допомогою програмного забезпечення Zeiss LSM Image Browser версія 4.2.0.121 (Carl Zeiss MicroImaging GmbH). Експерименти проводили у трьохкратній повторності. На кожну повторність використовували 15 коренів.

Результати та обговорення

Нами було зроблено припущення, що реалізація ефекту синергізму між похідними динітроанілінів та інгібіторами ацетил-КоА-карбоксилази при використанні їх як композицій відбувається за рахунок індукції апоптотичних процесів в клітинах рослин. Як свідчать результати цитологічних досліджень із використанням подвійного забарвлення 4,6-діамідин-2-феніліндол/пропідіум йодидом, обробка гербіцидними композиціями дійсно індукуює загибель клітин коренів проростків ячменю та редьки.

Так, на зразках без обробки (негативний контроль) як ячменю, так і редьки можна було спостерігати лише поодинокі нежиттєздатні клітини в зоні кореневого чохла, ядра яких мали червоне забарвлення пропідіум йодидом. В той же час, після обробки проростків 0,15 М H_2O_2 , який використовували для штучної індукції апоптотичних процесів (позитивний контроль) спостерігали тотальне забарвлення пропідіум йодидом ядер меристематичних клітин коренів як ячменю, так і редьки, що свідчило про їх загибель (Sasaki et al., 1987). Також була перевірена здатність компонентів гербіцидних композицій викликати запрограмовану клітинну загибель клітин рослин при застосуванні їх окремо. Нами було встановлено, що обробка проростків як ячменю, так і редьки комерційними гербіцидами — інгібіторами ацетил-КоА-карбоксилази, призводила до появи в меристемі коренів нежиттєздатних клітин. Схожа залежність простежувалася і на зразках, які були оброблені похідними 2,6-динітроаніліну. Ефективність обробки коренів динітроанілінами була вищою за ефективність грамініцидів. Обробка гербіцидними композиціями також призводило до зростання кількості загублених клітин.

Таким чином можна зазначити, що обробка рослин похідними динітроанілінів, комерційними грамініцидами та їх композиціями у передбачених умовах експерименту концентраціях дійсно індукуює загибель клітин коренів проростків ячменю та редьки. При цьому, найбільш чутливими до дії похідних динітроанілінів та комерційних грамініцидів, а також до їх композицій виявилися рослини ячменю.

Як відомо, клітинна загибель може відбуватися декількома шляхами. По-перше, це загибель клітини шляхом некрозу. Даний тип загибелі характеризується, як правило, раннім розривом плазматичної мембрани, стисненням цитоплазми, неспецифічними розривами ДНК, відсутністю утворення апоптотичних телець та інше. Іншим шляхом виникнення клітинної

загибелі є запрограмована клітинна загибель або апоптоз, який пов'язаний з індукуванням в клітині ряду специфічних процесів, які й призводять до її загибелі. На відміну від некрозу при апоптозі не відбувається руйнування цитоплазматичної клітинної мембрани і, відповідно, вміст клітини не потрапляє в позаклітинне середовище. Характерними ознаками апоптозу є наявність процесів ацидифікації цитоплазми, специфічна фрагментація ДНК у міжнуклеосомальних ділянках специфічною ендонуклеазою з утворенням фрагментів розміром 180–200 нуклеотидів та утворення апоптичних тілець — мембранних везикул, які містять цілісні органели і фрагменти ядерного хроматину (Gottlieb et al., 1995).

Для визначення механізму виникнення загибелі клітин після обробки цими сполуками та їх композиціями було проведено оцінку ацидифікації цитоплазми *in vivo* за допомогою акридину оранжевого (АО) (Mitou et al., 2009). Згідно отриманих даних обробка проростків ячменю та редьки грамініцидами хоча і супроводжувалась появою значної кількості нежиттєздатних клітин, однак не ініціювала процеси ацидифікації цитоплазми. На це вказує відсутність флюоресценції АО в червоному спектрі. В клітинах проростків, оброблених похідними 2,6-динітроаніліну, спостерігалось зміщення спектру флюоресценції АО у червону область, що вказує на наявність в них процесів ацидифікації. Найбільш вираженими дані процеси були після обробки похідними 2,6-динітроаніліну у проростків ячменю.

Використання композицій динітроанілінів з грамініцидами призводило до посилення у порівнянні з окремо взятим динітроаніліном, процесів ацидифікації цитоплазми. На це вказує спектр флюоресценції застосованого барвника. Найбільш вираженим даний ефект був при використанні зазначених вище композицій на рослинах ячменю. Позитивна відповідь при детектуванні процесів ацидифікації в цитоплазмі клітин коренів проростків, оброблених динітроанілінами та їх композиціями з грамініцидами, вказують на можливу здатність досліджуваних динітроанілінових сполук індукувати апоптотичні процеси в рослинній клітині, а також на підсилення їх дії при застосуванні з інгібіторами ацетил-КоА-карбоксилази як композицій.

Іншим маркером апоптотичних процесів є наявність в клітинах специфічної нуклеосомної фрагментації ДНК, наявність якої оцінювали *in situ* за допомогою методу TUNEL. Як свідчать результати проведених досліджень, роздільна обробка проростків рослин комерційними гербіцидами — інгібіторами ацетил-КоА-карбоксилази не індукувала процеси, які призводять до специфічної нуклеосомної фрагментації ДНК клітин меристеми коренів. Це підтверджується відсутністю позитивного сигналу в ядрах клітин коренів проростків ячменю і наявність лише поодиноких ядер з позитивним сигналом у клітинах меристеми коренів редьки. Схожі дані було отримано і після обробки новими похідними 2,6-динітроаніліну. При аналізі зразків також не було отримано позитивного сигналу. Лише у випадках, коли зразки обробляли композиціями похідних динітроанілінів із граміні-

цидами, був наявний позитивний сигнал у меристематичних клітинах коренів проростків, що свідчить на користь специфічної нуклеосомної фрагментації ДНК.

Таким чином, можна зробити висновок, що обробка коренів проростків рослин як новими похідними 2,6-динітроаніліну Br-15 та Br-47, так і розглянутими комерційними грамініцидами здатна індукувати клітинну загибель в їх меристемі. При роздільному використанні цих сполук лише похідні 2,6-динітроаніліну ініціюють появу меристематичних клітин з ознаками ацидифікації цитоплазми. При цьому клітинна загибель у даних зразках не супроводжується нуклеосомною фрагментацією ДНК, що може бути пов'язано з початковою стадією індукції апоптотичних процесів. Застосування ж композицій грамініцидів з похідними 2,6-динітроаніліну також обумовлює загибель клітин, збільшуючи кількість клітин з ацидифікованою цитоплазмою, а також викликає нуклеосомну фрагментацію ДНК в ядрах меристематичних клітин, що свідчить про загибель клітин шляхом апоптозу.

Робота виконана в рамках науково-технічного проекту «Випробування та впровадження синергічних композицій високоефективних гербіцидів для зернових та технічних культур» (2008 р., номер держреєстрації 0108U004808).

Література

1. Appleby A. P., Müller F., Carpy S. Weed Control. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. 2002, Wiley-VCH, Weinheim. doi:10.1002/14356007.a28_165.
2. Hardy R. W. F., Giaquinta R. T. Molecular biology of herbicides // BioEssays. — 2005. — Vol. 1, № 4. — P. 152–156.
3. Ожередов С. П., Емец А. И., Литвин Д. И., Брицун В. Н., Швартау В. В., Лозинский М. О., Блюм Я. Б. Антимитотическое действие новых производных 2,6-динитроанилина и их синергическая активность в композициях с граминицидами // Цитология и генетика. — 2010. — Т. 44, № 5. — С. 54–59.
4. Zhang J., Allan S. Hamill and Susan E. Weaver Antagonism and synergism between herbicides: Trends from previous studies // Weed Technol. — 1995. — Vol. 9, № 1. — P. 86–90.
5. Ожередов С. П. Повышение активности гербицидов-ингибиторов ацетил-КоА-карбоксилазы при использовании их в композиции с новыми производными динитроанилинов / С. П. Ожередов, А. И. Емец, В. Н. Брицун, М. О. Лозинский, В. В. Швартау, Я. Б. Блюм // Физиология и биохимия культурных растений. — 2011. — Т. 43, № 2. — С. 122–128.
6. Madeo F. Apoptosis in yeast / F. Madeo, E. Herker, S. Wissing, H. Jungwirth, T. Eisenberg, K. Fröhlich // Curr. Opin. Microbiol. — 2004. — Vol. 7, № 6. — P. 655–660.
7. Samuilov V. D. Reactive oxygen species in programmed death of pea guard cells / V. D. Samuilov, D. B. Kiselevsky, A. A. Shestak, A. V. Nesov, L. A. Vasil'ev // Biochemistry (Mosc). — 2008. — Vol. 73, № 10. — P. 1076–1084.
8. Sasaki D. T. Discrimination of viable and non-viable cells using propidium iodide in two color immunofluorescence / D. T. Sasaki, S. E. Dumas, E. G. Engleman // Cytometry. — 1987. — Vol. 8. — P. 413–430.
9. Gottlieb R. A. Cell acidification in apoptosis: Granulocyte colony-stimulating factor delays programmed cell death in neutrophils by up-regulating the vacuolar H

(+)-ATPase / R.A. Gottlieb, H.A. Giesing, J.Y. Zhu, R.L. Engler, B.M. Babior // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1995. — Vol. 92. — P. 5965–5968.

10. Mitou G. Techniques to study autophagy in plants / G. Mitou, H. Budak, D. Gozuacik // Int. J. Plant Genomics. — 2009. — Vol. 2009. — ID 451357. — 14 p. doi:10.1155/2009/451357.

Резюме

Проведено оцінку здатності нових похідних 2,6-динітроаніліну, інгібіторів ацетил-КоА-карбоксилази та їх композицій індукувати клітинну загибель у рослин. При цьому визначено, що найбільш чутливими до їх дії є представники класу однодольних. Продемонстровано, що при роздільному використанні цих сполук лише похідні 2,6-динітроаніліну ініціюють появу меристематичних клітин з ознаками ацидифікації цитоплазми. Доведено, що застосування композицій грамініцидів з похідними 2,6-динітроаніліну обумовлює загибель клітин, збільшує кількість клітин з ацидифікованою цитоплазмою, а також викликає нуклеосомну фрагментацію ДНК в ядрах меристематичних клітин, що свідчить про загибель клітин шляхом апоптозу.

Проведена оценка новых производных 2,6-динитроанилина, ингибиторов ацетил-КоА-карбоксилазы и их композиций на способность индуцировать клеточную смерть у растений. При этом показано, что наиболее чувствительными к ним являются представители класса однодольных. Также показано, что при раздельном применении данных веществ только производные 2,6-динитроанилина способны инициировать ацидификацию цитоплазмы клеток меристемы. Доказано, что применение композиций граминицидов с производными 2,6-динитроанилина вызывает гибель клеток, сопровождающуюся ацидификацией цитоплазмы и нуклеосомной фрагментацией ДНК, что указывает на запрограммированную гибель клеток.

The new derivatives of 2,6-dinitroaniline, inhibitors of acetyl-CoA carboxylase, and their compositions was evaluation of the ability to induce cell death in plants. The most sensitive representatives of the monocotyledonous class to them are was demonstrated. Also show that the separate application of these substances only derivatives of 2,6-dinitroaniline are able to initiate the acidification of the cytoplasm of cells of the meristem. It is proved that the use of compositions graminitsidov with derivatives of 2,6-dinitroaniline causes cell death, accompanied by acidification of the cytoplasm and nucleosomal DNA fragmentation, indicating that programmed cell death.

ОПАЛКО А.І., КУЧЕР Н.М., ОПАЛКО О.А.

Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

Україна, 20300, Умань, Черкаської обл., вул. Київська, 12 А, e-mail: opalko_a@ukr.net

ФІЛОГЕНЕТИЧНІ ЗВ'ЯЗКИ КУЛЬТИВОВАНИХ В УКРАЇНІ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *PYRUS* L. ВИКОРИСТАНИХ У СЕЛЕКЦІЇ ГРУШ

Рід *Pyrus* L. разом з близько 30-а іншими родами донедавна включали до складу підродини *Maloideae* C. Weber (*Pomoideae* Focke), що належить до родини *Rosaceae* Juss. Певні складнощі у номенклатурі роду *Pyrus* свого часу спричинив К. Ліней, котрий у своїй книзі «Species plantarum ...» [17]

зарахував до нього відомих йому представників *Malus* і *Cydonia* [4]. За практичною значущістю для людини переважають представники роду *Malus* Mill. (близько 50 видів у помірній зоні Північної півкулі) і *Pyrus* L. (близько 40 видів, головним чином у Євразії). При цьому кількість уживаних різними авторами латинських видових назв перевищує цю кількість у чотиришість разів. Більшість цих назв нині вважаються непевними (напів-та/або тимчасово визнаними), синонімами, внутривидовими таксонами або міжвидовими гібридами [22, 23]. Нині триває ревізія складу родини *Rosaceae*, зокрема рангу підродини *Maloideae* [12, 13, 18], що спонукало до проведення аналізу доступних літературних джерел, які стосуються філогенії її родів, зокрема цінного для світового і вітчизняного садівництва роду *Pyrus*. Пошук джерел і, особливо, донорів дефіцитних ознак антропоадаптивного комплексу [6] слід назвати однією з головних проблем, які доводиться розв'язувати при застосуванні селекційно-генетичних методів удосконалення рослин, у тім числі культивованих представників *Pyrus*. Як слушно вказував М. І. Вавилов [1, 2], такий пошук найбільш ефективний за умови достатньої поінформованості селекціонера щодо походження поліпшуваної рослини і її зв'язків з дикорослими й культивованими родичами.

Матеріали і методи

Зважаючи на важливість проблеми вихідного матеріалу для селекції та беручи до уваги дані, отримані внаслідок аналізу результатів експериментальних і теоретичних досліджень, виконаних у різних країнах світу впродовж тривалого історичного періоду науковцями різних наукових шкіл [1–5, 8–22], зроблено спробу узагальнення доступної інформації. При цьому було застосовано метод групової вибірки, що дало змогу відвіяти сумнівні публікації, застосувавши критерії цитування у фахових рецензованих виданнях та надаючи перевагу дослідженням, що виконуються за міжнародними програмами.

Результати та обговорення

На підставі виконаного групою науковців університетів США, Канади й Швеції аналізу ряду представників різних підродин *Rosaceae*, [12, 13, 18] за шістьма ядерними (18S, gbssi1, gbssi2, ITS, pgip, rpo) і чотирма хлоропластними (matK, ndhF, rbcL, and trnL-trnF) ділянками ДНК-последовностей ранг колишніх підродин *Prunoideae* і *Maloideae* пропонується знизити до триб, і разом з іншими спіреоїдними трибами об'єднати в одну монофілію (у дуже широкому розумінні) підродину *Spiraeoideae* C. Agardh, з $x = 8, 9, 15$ або 17. Відтак до підродини *Spiraeoideae* включено надтрибу *Pyrodae* Camp., Ev., Morg. et Dick. з трибою *Pyrae* Baill. ($x = 17$, за винятком роду *Vauquelinia* Cottea ex Humb. et Bonpl. з $x = 15$), підтриба якої *Pyrinae* поглинула більшість родів підродини *Maloideae*, в тім числі роди *Malus* та *Pyrus*. Чимало науковців вже визнають підтрибу *Pyrinae* у складі підродини *Spiraeoideae* як dokonаний факт, зауважуючи при цьому, що підтриба *Pyrinae* — колишня підродина *Maloideae* [12–15, 18, 20]. Дещо

по-іншому класифікує родину *Rosaceae* А. Л. Тахтаджян (2009), однак і він підтримує необхідність ревізії *Maloideae*. У перевиданій в 2009 році книзі «Flowering Plants» А. Л. Тахтаджян запропонував нову версію своєї системи квіткових рослин, перероблену з урахуванням останніх результатів молекулярної філогенетики, в якій роди *Crataegus*, *Cydonia*, *Malus*, *Pyrus* та інші види яблуневих об'єднані у підродину *Pyroideae* (*Maloideae*) [21].

Вважається, що рід *Pyrus* виник у гірських районах західної і південно-західної частини Китаю під час третинного періоду (65–55 млн років тому) звідки поширився на схід і захід. Три субцентри різноманіття представників роду *Pyrus* були виявлені М. І. Вавиловим [2]:

1. Китайський центр, де ростуть *P. pyrifolia* (Burm. f.) Nakai (у першоджерелі вжито не чинний нині синонім *P. serotina* Rehder) і *P. ussuriensis* Maxim;

2. Середньоазійський центр, що простягається північно-західною частиною Індії (Пенджаб), північною частиною Пакистану, охоплює Афганістан, Таджикистан, Узбекистан і Західний Тянь-Шань, де нині ростуть проміжні форми між *P. communis* L. і *P. bretschneideri* Rehder, і де відбувалась, як вважають, гібридизація *P. communis* з *P. heterophylla*, і можливо, *P. korshinskyi* Litv. і *P. boissieriana* Buhse;

3. Близькосхідний центр, що включає гори Кавказу та Малої Азії, де відбулося одомашнення *P. communis*.

Вивчення послідовностей некодуєчих ділянок ДНК хлоропластів 24 відомих сортів груші дало змогу з'ясувати, що вони належать до *P. bretschneideri*, *P. calleryana* Decne., *P. communis* та *P. pyrifolia*, а дев'ять сортів є наслідком міжвидової гібридизації [16].

Ареал роду охоплює в Євразії країни з помірним кліматом і лише у Китаї опускається на південь до тропіків [4, 9]. Нині на представників роду *Pyrus* можна натрапити у семи (Циркумбореальній, Східно-азійській, Середземно-морській, Ірано-Туранській, Судано-Замбезійській та Індійській) [10] з числа визначених А. Л. Тахтаджяном [8] флористичних областей. Порівнюючи ареали видів роду *Pyrus* і *Malus* слід зазначити, що північна межа поширення дикорослих видів роду *Pyrus* значно нижча, ніж *Malus* [8]. Більшість видів ростуть у гірських лісах і лише *P. communis* досить широко розповсюджена на рівнині. Найбільш характерні груші для гір Китаю, Кавказу і Середземноморських країн. Родовий ареал простягається від Гібралтару і гір Атласу у північній Африці до берегів Японського моря, розташовуючись на північ і південь від 40-ї паралелі, від якої район поширення видів роду *Pyrus* дає низку нерівномірних розширень. У напрямку на схід від Гринвіча охоплює країни Західної і Східної Європи, доходить майже до Балтійського моря і верхів'їв Дніпра, тобто досягає 55° пн. ш. Далі північна межа ареалу від району середньої Волги опускається на південь до гір Копетдагу. У горах Паміро-Алау і Тянь-Шаню межа знову піднімається до 45° пн. ш., після чого різко падає до Гімалаїв горами Кашміру.

Оминувши Гімалаї, межа переходить у Китай і звідси знову поступово піднімається до 50° пн. ш., охоплюючи Маньчжурію, Корею і басейн Амуру. Південна межа ареалу у північній Африці огинає гори Атласу і підходить до берегів Середземного моря, де переривається і відновлюється у Синаї. Далі лінія межі переходить у Малу Азію та Іран, продовжується в Гімалаях і досягає тропіка Рака. У Китаї вона проходить вздовж тропіка, а потім знову повертає на північ, охоплюючи Японію й острів Тайвань і з'єднується з північною межею у російському Примор'ї [9].

Суцільні великі лісові масиви і чисті насадження груша утворює нечасто. На Кавказі іноді груша трапляється у великій кількості, що дає змогу говорити про цілі грушеві ліси, однак і тут вона пов'язана з дубом і фактично формує невеликі ліси на окраїнах дубових і грабових лісів, переважно в долинах річок, де ліс дуже змінений вирубками. У Закавказзі і Криму, в Ірані, Малій Азії, на Балканах, у Ліванських горах дикорослі груші ростуть переважно у світлих ксерофільних рідколіссях і найбільш різноманітні за видовим складом. У схожих умовах, а також у долинах річок і на передгір'ях дикорослі груші поширені у Середній Азії, в горах Атласу вони часто трапляються в лісах коркового дуба [9].

Територія розповсюдження культурної груші загалом збігається з родовим ареалом дикорослих видів роду *Pyrus*, але у деяких місцях просувається значно далі на північ — майже на 15° північніше природної межі ареалу. Перші свідчення про культуру груші збереглися в китайських одах другого тисячоліття до нашої ери. Таким чином, «вік» цього плодового дерева перевищує три з половиною тисячі років. Вперше вирощувати грушу почали в Західному і Центральному Китаї. Там і тепер росте понад десять різних дикорослих видів роду *Pyrus*. Деякі з них були взяті з лісів і посаджені біля осель як декоративні і плодові дерева. Культурна груша з Китаю поширилася на захід, проникла на Кавказ. Там на гірських схилах росло багато дикорослих видів роду *Pyrus*, плоди яких населення широко використовувало в їжу [3].

На території України первинні осередки груші з'явилися у містах-державках Причорномор'я (Ольвія, Херсонес) ще в V–IV ст. до н.е. [5], однак перші літописні згадування про плідівництво на Русі належать до X–XI століть за періоду князювання в Києві Володимира Святославовича і його сина — Ярослава Мудрого. Культура груші в Стародавній Русі почалася з південно-західних територій, її висаджували в князівських і монастирських садах Києва і певний час навіть мала більше поширення, ніж яблуні [7]. Тут одержали початок такі відомі сорти народної селекції, як Ільїнка, Безсім'янка й ін. [3].

У роки татаро-монгольської навали садівництво занепало, відновлюватися воно стало з перетворенням Московського князівства в сильну централізовану державу. На початку XIX століття в Росії вирощували вже близько 70 сортів груші. У першій російській помології А. Т. Болотова було описа-

но 39 сортів груші. Наприкінці XIX століття груша в Росії, особливо в Криму, почала швидко поширюватися за рахунок європейських сортів і набувати промислового значення [3].

Колекція роду *Pyrus* НДП «Софіївка» НАН України активно поповнюється з 2009 року і наразі нараховує чотири види і шість внутривидових таксонів:

Види:	Сорти	Підщепи
<i>P. communis</i> L.	Бере Десятова	Форма 1-38-93 — Пірогном
<i>P. ussuriensis</i> Maxim.	Княгиня Ольга	(<i>Pirognom</i>)
<i>P. pyrifolia</i> (Burm. f.) Nakai	Софія	Українська універсальна під-
<i>P. salicifolia</i> Pall. 'Pendula'	Уманська ювілейна	щепа розцвітих УУПРОЗ-6
		(<i>URRose-6</i>)

Зважаючи на цінність плодових і декоративних представників роду *Pyrus* [3, 5, 11] колекція цього роду буде поповнена за рахунок залучення матеріалів вітчизняних і зарубіжних генетичних ресурсів.

Висновок

Світова тенденція щодо впорядкування видових назв, уточнення складу родин, підродин, триб, родів тощо поширюється на представників роду *Pyrus*, однак наразі технічне забезпечення вітчизняних установ залишає лише можливість аналізувати дослідження, що виконуються в інших державах, хоча уточнення систематичного положення інтродукованих в Україні представників роду *Pyrus* вкрай необхідне для інтенсифікації селекції груші.

Література

1. Вавилов Н. И. Ботанико-географические основы селекции. (Учение об исходном материале в селекции) // Теоретические основы селекции растений [Под ред. Н. И. Вавилова]. — М.; Л.: Сельхозгиз, 1935. — Т. 1: Общая селекция растений. — С. 17–74.
2. Вавилов Н. И. Центры происхождения культурных растений // Труды по приклад. ботанике, генетике и селекции. — 1926. — Т. 16, № 2. — С. 14–103.
3. Груша. Коротка історія груші // Портал «Аграрний сектор України» — [Електронний ресурс]. — 2011. — Режим доступу — <http://agroua.net/plant/catalog/cg-46/c-54/info/cag-264>.
4. Лангенфельд В. Т. Яблоня: Морфологическая эволюция, филогения, география, систематика. — Рига: Зинатне, 1991. — 234 с.
5. Матвієнко М. В., Бабіна Р. Д., Кондратенко П. В. Груша в Україні. — К.: Аграрна думка, 2006. — 320 с.
6. Опалко А. И., Опалко О. А. Проблема повышения антропоадаптивного потенциала культурных растений // Актуальные проблемы сохранения устойчивости живых систем: Мат. VIII Международ. науч. экологической конф. (Белгород, 27–29 сентября 2004 г.). — Белгород: Изд-во БелГУ, 2004. — С. 152–153.
7. Опалко А. И. Селекция зернятковых культур // Селекция плодовых и овощевых культур: Підручник / А. И. Опалко, Ф. О. Заплічко. — К.: Вища шк., 2000. — С. 345–385.

8. Тахтаджян А.Л. Флористические области Земли. — Л.: Наука, 1978. — 248 с.

9. Федоров Ал. А. Род 14. Груша — *Pyrus* L. // Деревья и кустарники СССР [ред. С. Я. Соколов и др.]. — М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1954. — Т. 3. — С. 378–414.

10. Aldasoro J. J., Aedo C., Navarro C. Phylogenetic and phytogeographical relationships in *Maloideae* (*Rosaceae*) based on morphological and anatomical characters // *Blumea*. — 2005. — Vol. 50, № 1. — P. 3–32.

11. Bell R. L., Itai A. *Pyrus* // Wild crop relatives: genomic and breeding resources, temperate fruits [Ed. Chittaranjan Kole]. — Berlin; Heidelberg: Springer, 2011. — Chapter 8. — P. 147–178.

12. Campbell C. S., Evans R. C., Morgan D. R. et al. Phylogeny of subtribe *Pyrinae* (formerly the *Maloideae*, *Rosaceae*): Limited resolution of a complex evolutionary history // *Plant systematics and evolution* — 2007. — Vol. 266, № 1–2. — P. 119–145.

13. Dickinson T. A., Lo E. Y. Y., Talent N. Polyploidy, reproductive biology, and *Rosaceae*: understanding evolution and making classifications // *Plant systematics and evolution*. — 2007. — Vol. 266, № 1–2. — P. 59–78.

14. Franceschi P. Structural and functional conservation of *S*-specificities among *Pyrinae* species / Dondini L., Sanzoli J., Sansavini S. // Floral biology and *S*-incompatibility in fruit species: International workshop (San Michele all'Adige (Trento) and Bologna, Italy, 22–25 June 2011). — Bologna: Stampato da Grafi che Stile, 2011. — P. 32.

15. Ignatov A., Bodishevskaya A. *Malus* // Wild crop relatives: genomic and breeding resources, temperate fruits [ed. Chittaranjan Kole]. — Berlin; Heidelberg: Springer, 2011. — Chapter 3. — P. 45–64.

16. Kimura T., Iketani H., Kotobuki K. et al. Genetic characterization of pear varieties revealed by chloroplast DNA sequences // *Journal of horticultural science and biotechnology*. — 2003. — Vol. 78. — P. 241–247.

17. Linnaei C. *Pyrus* // Species plantarum, exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas. — Holmiae: Laurentii Salvii, 1753. — Vol. 1. — P. 479–480.

18. Potter D., Eriksson T., Evans R. C. et al. Phylogeny and classification of *Rosaceae* // *Plant systematics and evolution*. — 2007. — Vol. 266, № 1–2. — P. 5–43.

19. Sanzoli J. Dating end functional characterization of duplicated genes in the apple (*Malus domestica* Borkh.) by analyzing EST data // *BMC Plant biology*. — 2010. — Vol. 10 (87) P. 1–22.

20. Takhtajan A. L. Flowering plants [corr. 2nd ed.]. — N. Y.: Springer Science+ Business Media, 2009. — 871 p.

21. *The Plant List* by the Royal Botanic Gardens Kew and Missouri Botanical [Електронний ресурс]. — 2010. — Режим доступу. — <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Malus>.

22. *The Plant List* by the Royal Botanic Gardens Kew and Missouri Botanical [Електронний ресурс]. — 2010. — Режим доступу. — <http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Pyrus>.

Резюме

Обговорено результати виконаних ученими різних країн світу досліджень, у тім числі молекулярно-генетичних, щодо походження представників роду *Pyrus* L. та їхніх найближчих родичів, які можуть бути використані в селекції груші.

Обсуждены результаты выполненных учеными разных стран мира исследований, в том числе молекулярно-генетических, касающихся происхождения представителей рода *Pyrus* L. и их ближайших сородичей, которые могут быть использованы в селекции груши.

Results of performed by scientists from different countries research, including molecular genetic studies, related to the origin of genus *Pyrus* L. and their closest approach congeners, which may be the basis of the breeding pear, are argued.

**ПАРНИКОЗА І. Ю.¹, БУБЛИК О. М.¹, АНДРЕЄВ І. О.¹, СПІРІДОНОВА К. В.¹,
ТРОЙЦЬКА Т. Б.², КУНАХ В. А.¹**

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,
вул. Акад. Заболотного, 150, м. Київ, 03680, Україна, e-mail: kunakh@imbg.org.ua

²Миколаївський обласний еколого-натуралістичний центр,
пр. Героїв Сталінграда, 1, 50025, Миколаїв, Україна

ВПЛИВ ФРАГМЕНТАЦІЇ АРЕАЛУ НА СТАН ПОПУЛЯЦІЙ СТЕПОВИХ КСЕРОФІТІВ УКРАЇНИ НА ПРИКЛАДІ *IRIS PUMILA* L.

Наразі в Україні не розорано лише близько 3 % площі степової зони. Із 826 видів рослин, занесених до останнього видання Червоної книги України, 33,4 % трапляються виключно у степових біотопах. Серед степових видів, які не занесені до Червоної книги, проте знаходяться під загрозою, і характерні для типчаково-ковилових степів, є і вид *Iris pumila* L. Це типовий степовий ксерофіт флори України, ареал якого внаслідок розорювання Степової зони, починаючи з XVIII ст., фрагментований на безліч невеликих частин. Загальний стан окремих популяцій цього виду в умовах ізоляції в Україні спеціально не вивчався. Водночас залишаються невідомими наслідки такої ізоляції на популяційно-генетичному рівні. Зважаючи на це, метою роботи було вивчити наслідки ізоляції для популяцій *I. pumila* L. на популяційно-екологічному та молекулярно-генетичному рівнях.

Матеріали і методи

Популяції виду, раніше виявлені під час польових експедицій 2000–2009 рр., вивчали шляхом польових виїздів впродовж сезонів 2010–2011 рр., а також за деякими наявними в літературі відомостями [1]. Досліджено низку популяцій виду з Дніпропетровської області (2 популяції), Миколаївської області (3 популяції) та АР Крим (2 популяції) (рисунок). Вивчали розмір популяцій, вікову структуру, квітування та плодоношення. Окрему увагу приділяли негативним чинникам зростання.

Для молекулярно-генетичного вивчення взято 11 рослин із однієї з численних популяцій на ділянці петрофільного, а отже недосяжного для оранки, степу біля села Мигія, яка налічує більше 1000 особин. Зібрано зразки листків рослин цієї популяції з ділянки площею близько 100 м², серед яких були як зрілі генеративні, так і молоді прегенеративні особини. ДНК ви-

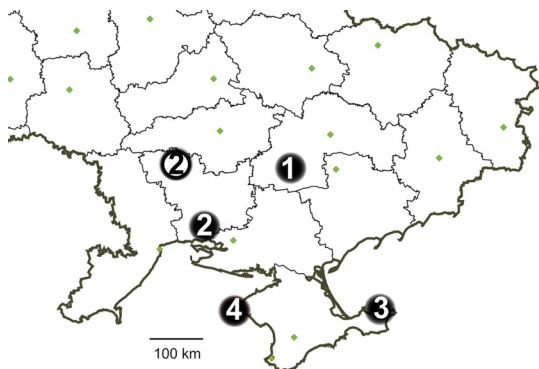


Рис. Розміщення досліджених популяцій *Iris pumila*: 1 — Дніпропетровська область, 2 — Миколаївська область, 3 — Керченський півострів, АР Крим, 4 — Тарханкутський півострів, АР Крим. Незамальованим колом показано локалізацію популяції у селі Мігія, для якої досліджено генетичний поліморфізм

діляли за [2] із сухого матеріалу за допомогою ЦТАБ з подальшою очисткою хлороформом. Проводили ПЛП з чотирма типами праймерів — RAPD (праймери A07, A08, A12, A16, A17, A19, B01, B05, B08), ISSR (праймери ISSR-03, ISSR-05, ISSR-59 [3], UBC#810, UBC#811, UBC#835, UBC#836, UBC#840), RGAP (праймери Pto kin3, Pto kin4, XLRR for, XLRR rev, NLRR for, NLRR rev, Cre3Ploop, Cre3-k3, NLRR-INV1, NLRR-INV2, Pto-kin1 IN1, Pto-kin2 IN2 [4]), LP-PCR (праймери MRE, SGER, 3'HSR, QQG [5]). ПЛП проводили за температурних режимів, рекомендованих авторами, для RAPD — за [6], склад реакційної суміші наведено у [6].

Електрофореграми представляли у вигляді бінарних матриць, на основі яких розраховували генетичні відстані Жакарда між рослинами та основні показники генетичного поліморфізму популяції — середнє число алелів на локус (A), ефективне число алелів на локус (Ae), частку поліморфних ампліконів (P), індекс Шеннона (S), генну різноманітність Нея (очікувану гетерозиготність He).

Результати і обговорення

Досліджені популяції мали чисельність від кількох сотень (в околицях м. Миколаєва на півострові Аляуди та у селі Коларово, а також на півострові Тарханкут та Керченському півострові Криму) до кількох тисяч екземплярів (у випадку популяції в селі Мігія). Щільність коливалася від 2-х до 10 екз./м².

В усіх досліджених популяціях домінували зрілі генеративні особини, їх відсоток становив 95–100%. Зрілі генеративні особини мають розгалужену систему кореневищних пагонів та великі розміри куртини, що не дозволяє сплутати їх з прегенеративними особинами, навіть коли вони не квітнуть в окремі роки. Квітування відмічено в усіх популяціях, його наявність, масовість та успішність зав'язування плодів коливалася залежно від умов конкретного року. Так, наприклад, за результатами досліджень в окремі роки (2005–2007 рр.) в умовах вкрай посушливих рівнинних степів Керченського півострова слідів успішного плодоношення не виявлено. Залеж-

ність успішного плодоношення від умов вегетаційного сезону показано нами також багаторічними дослідженнями іншого лучно-степового виду роду — *Iris hungarica* (Waldst. et Kit.) [7]. Зважаючи на це, питання частоти квітування та плодоношення *I. pumila* потребує досліджень динаміки популяцій.

Досліджені популяції знаходяться під значним антропогенним тиском. Найбільш відчутний вплив має фрагментація ареалу. Зокрема, на території Дніпропетровської області ми спостерігали поодинокі особини *I. pumila* на крихтих клаптиках цілинного степу по краях доріг та річкових долин. Це, без сумніву, крайня форма існування популяцій виду.

Для більшості популяцій *I. pumila* постійним є вплив весняного палу та випасу, що може стримувати поповнення популяцій молодими особинами, а отже призводити до формування неповночленних популяцій з домінуванням зрілих генеративних екземплярів. Така ситуація показана нами для інших степових багаторічників — *Pulsatilla pratensis* Mill. та *I. hungarica* на території степових ділянок урочища Лиса гора у Києві, що зазнають регулярного палу [7].

Спорадичність фіксації проростків також може бути пов'язана з несприятливістю значного відсотку вегетаційних сезонів, а також із значною задернованістю поверхні ґрунту в місцезростаннях виду.

З інших факторів, що значно впливають на чисельність популяцій півників, необхідно вказати ерозію морських та лиманних узбереж. У Причорномор'ї середовищем існування виду є вузькі смуги вздовж ерозійних узбереж. Їх поступовий обвал ставить дані популяції під загрозу зникнення. Суттєвий негативний вплив здійснюють також заліснення степових ділянок, використання степових угідь як сміттєзвалищ, добування корисних копалин, чорна археологія. Слід зазначити і цілеспрямоване викопування декоративно цінних особин. Дія даних чинників особливо небезпечна через відсутність реальних даних про динаміку популяцій виду з більшої частини сучасного ареалу. Адже цей вид, не включений до Червоної книги України, фактично випав з поля зору моніторингових досліджень, які проводять об'єкти природно-заповідного фонду та інші наукові установи України. Скорочення популяцій та втрата генетичного різноманіття у такому випадку можуть залишатися непоміченими.

За результатами молекулярно-генетичного вивчення фрагменту популяції в селі Мигія встановлено значний рівень генетичного поліморфізму окремих особин. Значення основних показників генетичного поліморфізму за сумарними даними всіх маркерів, що охоплюють кодуючу та некодуючу фракції геному, склали: частка поліморфних ампліконів (P) — 80,5%, середнє число алелей на локус (A) — $1,800 \pm 0,020$, ефективне число алелей на локус (A_e) — $1,346 \pm 0,016$, індекс Шеннона (S) $0,343 \pm 0,011$, генна різноманітність Нея (очікувана гетерозиготність H_e) — $0,217 \pm 0,008$, гене-

тичні відстані між рослинами за Жакардом (D_j), — 44,09– 65,16 % (середня генетична відстань — 52,79%).

Високий рівень генетичного поліморфізму узгоджується із біологією виду — перехресним запиленням, багаторічністю. У дослідженій популяції статевий спосіб розмноження переважає над вегетативним, жоден із зразків не був клоном, навіть ті, що зростали дуже близько один від одного (найменша відстань між зразками — 16 см).

Результати генетичного аналізу дослідженої популяції попередньо свідчать про відсутність ознак збіднення генофонду даної, ізольованої від інших популяції *I. pumila*. Зауважимо, що це попередні результати аналізу невеликого фрагменту популяції *I. pumila*. Лише порівняння результатів молекулярно-генетичного аналізу представників інших віддалених від цього місцезростання фрагментів цієї ж популяції з даними для інших популяцій покаже, наскільки отримані значення генетичного різноманіття характеризують популяції виду — фрагменти колишнього неперервного ареалу. Отримані результати мають стати відправною точкою для подальшого вивчення генетичного поліморфізму *I. pumila*, яке надасть корисну інформацію для планування природоохоронних програм.

Висновки

Досліджені популяції *I. pumila* характеризувалися неповночленним віковим спектром з домінуванням генеративних особин та спорадичним насіннєвим поновленням. Розмір популяції залежав від розмірів степового фрагменту. Вивчення невеликого фрагменту популяції *I. pumila* у селі Мигія Миколаївської області не виявило ознак генетичного збіднення (ерозії). Загрози, викликані скороченням площі степових фрагментів та посиленням антропогенним тиском на них викликають необхідність розглянути доцільність внесення цього виду до національної Червоної книги. Це також сприятиме включенню виду в національні моніторингові програми.

Література

1. Parnikoza I. Yu., Troitskaya M. A., Troitskij M. A., et al. *Iris pumila* L. in Ukraine // In: (Novikov V. S. et al.) proceeding of the second Moscow international symposium «Iris-2011». Moscow 14–17 June 2011. — M.: MAKSPress: 105–110.
2. Doyle J. J., Doyle J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // *Phytochem. Bull.* — 1987. — Vol. 19. — P. 11–15.
3. Chuanliang D., Jian Zh., Longdou L., et al. Study on germplasmic resources of *Lycoris longituba* using RAPD and ISSR // *Analele Universitatii «Alexandru Ioan Cuza», Seria Genetica si Biologie Moleculara.* — 2006. — V. VII. — P. 111–120.
4. Dong P., Wei Y., Chen G. et al. Resistance gene analog polymorphisms (RGAPs) in wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides*) and their ecological associations // *Genet. Resour. Crop Evol.* — 2009. — Vol. 56. — P. 121–136.
5. Liviero L., Maestri E., Gulli M. et al. Ecogeographic adaptation and genetic variation in wild barley, application of molecular markers targeted to environmentally regulated genes // *Genetic Resources and Crop Evolution.* — 2002. — Vol. 49, № 2. — P. 133–144.

6. Бублик О.М., Андреев І.О., Сніпідонова К.В. и др. Генетична гетерогенність рідкісного ендемічного виду *Ungernia victoris* (Amaryllidaceae): RAPD-аналіз // Український ботанічний журнал. — 2008. — Т. 65, № 3. — С. 445–452.

7. Парнікоза І., Василюк О., Іноземцева Д., та ін. Степи Київської області: сучасний стан та проблеми збереження. — НЕЦУ, К., 2009. — 164 р.

Резюме

Целью данного исследования было изучить влияние изоляции на популяции *Iris pumila* L. — типичного степного ксерофита флоры Украины, ареал которого разделен на большое количество мелких фрагментов. Большинство исследованных популяций характеризуются доминированием генеративных экземпляров и спорадическим семенным возобновлением. По результатам предварительного генетического анализа небольшого фрагмента популяции *Iris pumila* не выявлено признаков её генетического обеднения (эрозии).

Метою дослідження було вивчити вплив ізоляції на популяції *Iris pumila* L. — типового степового ксерофіту флори України, ареал якого розділено на велику кількість малих фрагментів. Більшість із досліджених популяцій характеризуються домінуванням генеративних екземплярів та спорадичним насіннєвим поновленням. Результати попереднього генетичного аналізу відносно невеликого фрагменту популяції *Iris pumila* не виявили ознак її генетичного збіднення.

Our goal was to investigate the effect of isolation on populations of *Iris pumila* L., a typical Ukrainian steppe xerophyte which areal has been split into a multitude of small fragments. Most of the studied populations clearly demonstrate prevalence of generative specimens and rare seedlings. In this preliminary genetic study of a relatively small *Iris pumila* population fragment we did not detect any signs of gene pool depletion in the population.

ПОЛЯКОВА И. А., ЛЯХ В. А.

Запорожский национальный университет,

Украина, 69063, г. Запорожье, ул. Жуковского, 66, e-mail: Ira.Linum@mail.ru

ОСОБЕННОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА ХЛОРОФИЛЛДЕФИЦИТНЫХ МУТАНТОВ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО

Для нормального функционирования хлоропластов необходима генетическая информация как ядра, так и органелл. Наиболее удобным объектом для исследования процессов фотосинтеза, особенностей пластидного аппарата и генов, которые их контролируют, уже много лет служат хлорофилльные мутанты [2, 3]. Успешная в этом плане работа проведена на ячмене, горохе, сое, кукурузе, пшенице, хлопчатнике и подсолнечнике, выявлены ядерные и пластидные гены и описаны их взаимодействия [3].

Целью нашей работы было изучить особенности фотосинтетического аппарата хлорофилльных мутантов льна масличного и выявить связь между строением пластид хлорофиллдефицитных частей растений и типом хлорофилльной недостаточности.

Материалы и методы

В качестве материала использовали линейный сорт льна масличного Циан и, полученные на его основе с помощью индуцированного мутагенеза, мутантные линии М-80, М-81 и М-84, характеризующиеся разным типом хлорофилльной недостаточности. Мутантные линии М-80 и М-81 получены при облучении семян гамма лучами в дозе 400 Гр, а М-84 — 700 Гр.

Для анализа пластидного аппарата у всех линий, выращенных в полевых условиях 2010 года, на стадии бутонизации отбирали листья и фиксировали в смеси Темпера [1], которая позволяет сохранять окраску хлоропластов. Затем листья парафинировали, из них готовили поперечные срезы на ротационном микротоме МПС-2 и проводили их депарафинирование. Для этого стекла с наклеенными срезами промывали в трёх сменах ксилола, двух сменах 100 % спирта, одной смене 75 % спирта, одной 50 % спирта и трёх сменах дистиллированной воды. Время нахождения в каждой среде — 2–3 минуты. Далее срезы заключали в глицерин и накрывали покровными стёклами [1, 5]. Полученные препараты фотографировали при помощи тринокулярного микроскопа $\times S-3330$ и окулярной камеры МА88–500 при увеличении $\times 640$ и $\times 1600$ раз. Размеры хлоропластов (длину и ширину) измеряли стандартными методами при помощи окуляр-микрометра [5].

Результаты и обсуждение

Изучаемые мутантные линии характеризуются различным проявлением минус-хлорофилльных изменений [4]. Локализация хлорофиллдефицитного участка в верхней, средней или нижней частях растения обусловлена определенным типом мутации. Так, у М-80 верхняя часть растения светло-желтая, а нижняя — светло-зеленая. Данное хлорофилльное изменение относится к типу *viridis*. Растения М-81 (тип *xantha*) имеют характерную бело-желтую окраску. Гену окраски присвоен символ white-yellow-green — *wyg* (бело-желто-зеленый) [6]. У растений М-84 (тип *xanthoviridis*) хлорофиллдефицитный участок находится в средней части растения. Ген, отвечающий за характерную грязно-желтую окраску листьев растений льна, был назван нами «dirty-yellow-green», а гену присвоен символ *dug* [7]. К моменту исследования все мутантные растения имели четко выраженную хлорофилльную часть. Контролем служили растения льна сорта Циан.

Сравнительному морфометрическому анализу подвергали клетки мезофилла листьев хлорофилльных частей растений в сравнении с контролем. В результате нами выявлены изменения морфологии таких фотосинтетических структур клетки как хлоропласты.

Как видно из таблицы, хлоропласты хлорофиллдефицитных частей мутантных линий как по длине, так и по ширине в большинстве случаев существенно отличались от сорта Циан. При этом наблюдалось уменьшение их линейных размеров. М-81 имеет самую большую по сравнению с дву-

Таблица

Сравнительная морфология хлоропластов хлорофиллдефицитных мутантов разных типов в сравнении с исходным генотипом

Генотип	Длина хлоропластов, мкм	Ширина хлоропластов, мкм	Площадь сечения, мкм ²	Объем, мкм ³	Количество на продольном срезе клетки, шт.
Циан	5,8±0,21	2,3±0,14	10,4±0,6	16,3±1,92	11,9±0,64
М-80	2,4±0,15***	1,8±0,16*	3,4±0,38***	4,4±0,75***	16,3±0,39***
М-81	4,1±0,29**	0,8±0,08***	2,6±0,26***	1,4±0,25***	10,6±0,76
М-84	2,9±0,18***	2,3±0,31	5,3±0,65***	8,7±1,61*	21,6±0,79***

Примечание: *, **, *** — отличия от сорта Циан существенны при $P < 0,05, 0,01$ и $0,001$, соответственно.

мя другими мутантами длину хлоропластов, хотя и отличается наименьшей их шириной.

Учитывая уменьшенные параметры длины и ширины хлоропластов мутантных линий, соответственно их объем и площадь сечения также были существенно меньше, чем у сорта Циан.

Подсчёт количества хлоропластов на продольном срезе клетки показал, что данный параметр находится в определенной зависимости от их размера. Так, в клетках мезофилла хлорофилльных частей мутантов М-80 и М-84 количество хлоропластов значительно больше, а их объем, площадь сечения и максимальная длина в несколько раз меньше, чем у сорта Циан. У М-81 количество пластид находится на уровне контроля, хотя их многие морфологические характеристики существенно уступают сорту Циан. Очевидно, это связано с тем, что хлоропласты данного мутанта имеют большую длину.

Выявленные нами изменения фотосинтетического аппарата не могли не затронуть и биохимические показатели, а именно пигментный состав изучаемых линий. Из литературных данных [2] известно, что существующие хлорофиллдефицитные мутанты можно разделить на три группы: мутанты по хлорофиллу *a*, мутанты по хлорофиллу *b* и мутанты по обоим хлорофиллам. Однако более часто у растений встречаются мутанты второй группы в связи с тем, что этот пигмент является вспомогательным, а не основным, как хлорофилл *a*. Именно поэтому у хлорофиллдефицитных растений, в сравнении с исходными образцами, фотосинтез угнетен, однако он все таки происходит и эти растения являются жизнеспособными и дают семена.

Проведенный анализ показал, что суммарное содержание хлорофиллов существенно уменьшается у мутанта М-81, а у линий М-80 и М-84 оно не изменяется в сравнении с исходным генотипом (рис.). Количество же каротиноидов у всех исследуемых хлорофилльных мутантов достоверно увеличивается. Именно это и определяет, на наш взгляд, желто-зеленую окраску листьев мутантов. Вероятно, каротиноиды в данном случае играют

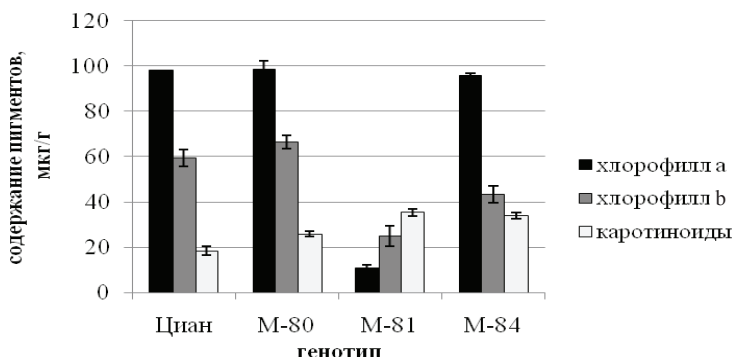


Рис. Содержание фотосинтетических пигментов в листьях хлорофиллдефицитных мутантов и сорта Циан на стадии бутонизации

защитную роль, оберегая хлорофиллы от фоторазрушения, а также частично компенсируют их поглотительную способность. Мы полагаем, что это может быть одним из путей адаптации хлорофиллдефицитных растений к условиям окружающей среды.

Изучение морфологии пластидного аппарата мутантов льна позволяет предположить наличие связи между строением пластидного аппарата хлорофиллдефицитных частей растений и типом хлорофилльной недостаточности. Так, мутация *white-yellow-green* (тип *xantha*) проявляется в значительном уменьшении ширины хлоропластов и их объема, а, например, мутация *dirty-yellow-green* (тип *xanthoviridis*) — в уменьшении длины хлоропластов, но не таком значительном изменении объема по сравнению с исходной формой.

Литература

1. Барыкина Р. П., Веселова Т. Д., Девятов А. Г., Джалилова Х. Х., Ильина Г. М., Чубатова Н. В. Справочник по ботанической микротехнике. Основы и методы. — М.: МГУ, 2004. — 312 с.
2. Гостимский С. А. Цитогенетический анализ хлорофилльных мутантов гороха // Теория химического мутагенеза. — М.: Наука, 1971. — С. 64–69.
3. Ладыгин В. Г., Семенова Г. А., Шегай И. Д. Структурно-функциональная организация хлоропластов у мутанта *xantha-702* хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. // Цитология. — Т. 48. — № 7. — 2006. — С. 537–553.
4. Лях В. А., Сорока А. И. Ботанические и цитогенетические особенности видов рода *Linum* и биотехнологические пути работы с ними. — Запорожье: ЗНУ, 2008. — 182 с.
5. Полякова И. А., Лях В. А. Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат, 1988. — 271 с.
6. Полякова И. А., Лях В. А. Хлорофилльная мутация *xantha*, индуцированная гамма-лучами у льна масличного // Сб. науч. материалов «Льноводство: Реалии и перспективы». — Могилев, 2008. — С. 127–130.

7. Полякова И. А. Наследование хлорофилльной мутации *xanthoviridis* у льна масличного // Наук.-техн.-бюл. ИОК УААН. — 2009. — Вып. 14. — С. 52–56.

Резюме

Изучены особенности фотосинтетического аппарата хлорофилльных мутантов льна масличного типов *viridis*, *xantha* и *xanthoviridis*. Выявлено, что хлоропласты хлорофиллдефицитных частей мутантных растений существенно отличаются по своей морфологии как от исходного сорта, так и между собой.

Вивчено особливості фотосинтетичного апарату хлорофільних мутантів льону олійного типів *viridis*, *xantha* і *xanthoviridis*. Виявлено, що хлоропласти хлорофілдефіцитних частин мутантних рослин суттєво відрізняються за своєю морфологією як від вихідного сорту, так і між собою.

The peculiarities of photosynthetic apparatus in oil flax chlorophyll mutants of *viridis*, *xantha* and *xanthoviridis* types were studied. It was established that the chloroplasts in chlorophyll-deficient parts of the mutant plants were significantly differed in their morphology from both the initial variety and between the mutants.

ПРЯДКІНА Г. О¹, СТАСИК О. О¹, КОСОВЕЦЬ О. О²

¹Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,

Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська 31/17, e-mail: monitor@ifrg.kiev.ua

²Центральна геофізична обсерваторія Міністерства надзвичайних ситуацій, Україна, 03680 МПС, Київ, пр-т Науки, 39, корп. 2.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ФОТОСИНТЕТИЧНО АКТИВНОЇ РАДІАЦІЇ В ПОСІВАХ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ЗА РІЗНОГО РІВНЯ МІНЕРАЛЬНОГО ЖИВЛЕННЯ

Низькі темпи зростання врожайності зернових культур на початку цього сторіччя, в порівнянні з другою половиною минулого, в поєднанні з ростом чисельності людства, змінами клімату, скороченням площ орних земель потребують пошуку нових шляхів збільшення їх продуктивності [1, 2]. Аналізуючи складові врожайності, можна констатувати, що для найбільш важливих сільськогосподарських культур — пшениці, кукурудзи, рису та сої — зростання потенційної врожайності останні 50 років було результатом збільшення ефективності поглинання сонячної радіації посівом (за рахунок збільшення листового індексу та змін у архітектоніці посіву, вмісту хлорофілу в листках, швидшого змикання міжрядь) та $K_{\text{госп}}$ рослин (в результаті вкорочення довжини стебла та збільшення кількості зерен) [1, 3, 4]. Існують ще два можливих шляхи зростання продуктивності — збільшення періоду поглинання фотосинтетично активної радіації (ФАР) та ефективності використання радіації (ЕВР) посівом у процесі фотосинтезу [5, 6].

Відомо, що внесення мінеральних добрив призводить до зростання вмісту хлорофілу в листках рослин, збільшення тривалості періоду засвоєння ФАР за рахунок подовження фотосинтетичної діяльності листків, а також підвищення інтенсивності фотосинтезу. Проте величина ефекту вне-

сення високих доз добрив, як і ефективність використання елементів мінерального живлення в сортів може суттєво різнитися. Тому виявлення відмінностей у реакції генотипів окремих культур за ефективністю перетворення радіації в рослинну біомасу на різних фонах мінерального живлення може сприяти виділення найбільш перспективних. Метою даної роботи було оцінка ефективності використання ФАР за різного рівня мінерального живлення у сортів озимої пшениці, що відрізняються за продуктивністю.

Матеріали та методи

Експерименти проводили в умовах у дрібноділянковому досліді (площа ділянки — $1,6 \text{ м}^2$) на 3-х сортах озимої пшениці. Фаворитка та Смуглянка — високопродуктивні сучасні сорти та Миронівська 808 — менш продуктивний сорт старої селекції. Досліджували 2 рівня мінерального живлення: низький — по 26 кг/га діючої речовини азоту, фосфору та калію ($\text{N}_{26}\text{P}_{26}\text{K}_{26}$) та високий — 120 кг/га азоту та по 110 — фосфору та калію ($\text{N}_{120}\text{P}_{110}\text{K}_{110}$). Норма висіву становила 550 зернин на 1 м^2 в усіх варіантах.

Відбір зразків для визначення листового індексу посівів та маси сухої речовини надземної частини рослин здійснювали протягом періоду цвітіння — молочно-воскова стиглість зерна (МВС). Листовий індекс (ЛІ) посіву визначали як площу зелених листків всіх пагонів, що ростуть на одиниці поверхні ґрунту. Чисту продуктивність фотосинтезу (ЧПФ) розраховували як відношення приросту надземної біомаси за період між двома фенофазами до добутку середнього за цей проміжок часу значення ЛІ і тривалості періоду в добах. Величини приходу сумарної сонячної радіації за добу обчислювали за стандартною методикою [7]. Коефіцієнт перерахунку сумарної радіації у фотосинтетично активну визначали згідно [8].

Величину ЕВР за сезон вегетації розраховували як відношення приросту маси сухої речовини надземної частини рослин за певний період розвитку до сумарної за цей же період кількості ФАР, виражене у г/МДж [9]. Результати експериментів статистично оброблено за стандартними методиками [10].

Результати та обговорення

Динаміка накопичення сухої біомаси надземної частини рослин на одиницю поверхні посіву в варіантах з високим та низьким рівнем мінерального живлення суттєво відрізнялася у всіх 3-х досліджуваних сортів (рис. 1). Більша кущистість рослин пшениці у варіанті $\text{N}_{120}\text{P}_{110}\text{K}_{110}$ обумовила і більшу в 1,3–2 рази в порівнянні з низьким рівнем живлення масу надземної частини рослин у всіх трьох сортів. Водночас, на високому фоні живлення вже з фази молочної стиглості (МС) у сорту Миронівська 808 вона була достовірно меншою, за відповідні значення у сортів Смуглянка та Фаворитка.

Активність фотосинтетичного апарату у досліджуваних сортів оцінювали за величиною ЧПФ, що характеризує кількість біомаси, яку продукує за добу одиниця листової поверхні. Ці дані, що були розраховані для 2-х пе-

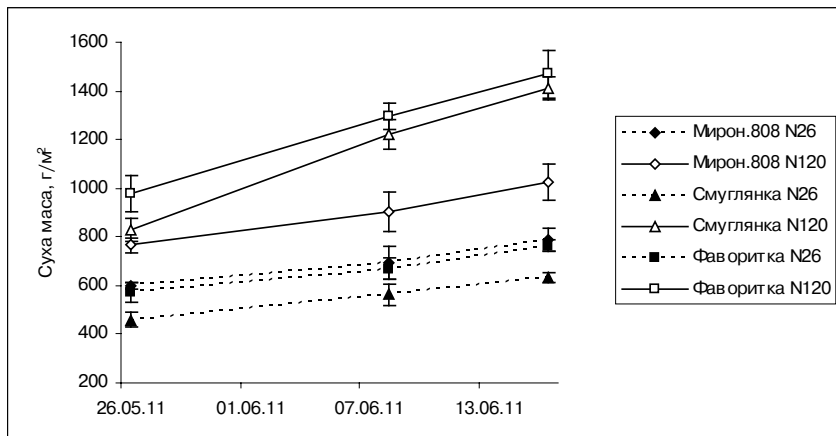


Рис. 1. Динаміка накопичення сухої біомаси посіву, г/м², у сортів озимої пшениці протягом періоду цвітіння — МВС. Тут та на рис. 2: $N_{26}P_{26}K_{26}$ — N_{26} , $N_{120}P_{110}K_{110}$ — N_{120}

ріодів — від цвітіння МС і від МС до МВС — представлені на рис. 2. В перший з них величина ЧПФ була меншою (5–9 г/м² діб в варіанті $N_{26}P_{26}K_{26}$ та 7–15 г/м² діб — $N_{120}P_{110}K_{110}$), ніж у другий (відповідно 10–20 г/м² діб та 12–27) для всіх досліджуваних сортів. Причиною цього було те, що маса пагону в період МС–МВС ще продовжувала наростати (за рахунок збільшення маси колосу), в той час, як площа зелених листків сильно скоротилася у порівнянні з попереднім періодом. У менш продуктивного сорту Миронівська 808 ЧПФ у відповідних варіантах була меншою, ніж у сортів Смуглянка та Фаворитка. Тобто, одиниця листової поверхні нових сортів озимої пшениці в досліджувані періоди онтогенезу продукувала більшу кількість сухої речовини за добу.

Високий рівень мінерального живлення збільшує ефективність використання ФАР, що надходить на поверхню посіву (табл. 1). Впродовж періоду цвітіння — МС у варіантах з низьким рівнем мінерального живлення ця величина коливалася від 0,5 до 0,6 г/МДж, а на високому фоні живлення — від 0,9 до 2 г/МДж. Цікаво відзначити, що в наступний період ці величини збільшилися до 1,1–2,1 та 1,9–3 г/МДж, відповідно, хоча площа асиміляційної поверхні зменшилася. Це свідчить, про значне посилення ролі активності фотосинтетичного апарату в фотосинтетичній продуктивності посіву в цей період.

На високому фоні мінерального живлення ЕВР у нових сортів Смуглянка і Фаворитка була у 1,5–2,3 рази вищою, ніж у сорту Миронівська 808, в обидва досліджувані періоди. Водночас на низькому фоні міжсортів відмінності за даним показником, в цілому, були незначними, проте

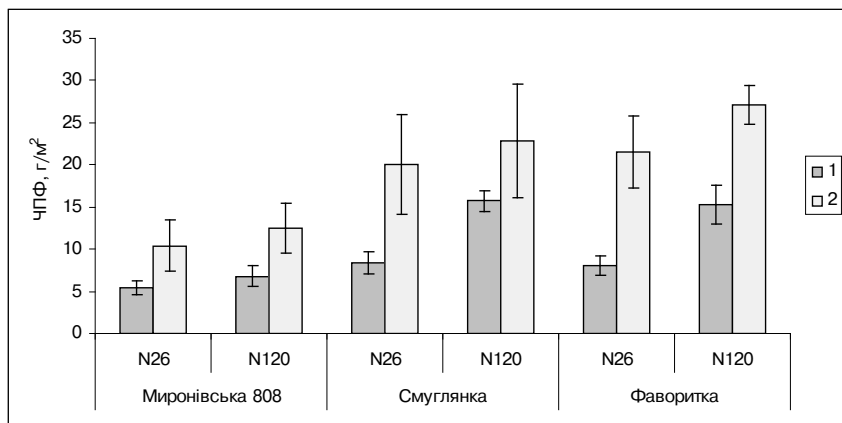


Рис. 2. Чиста продуктивність фотосинтезу, г/м² діб, за періоди цвітіння — МС (1) та МС–МВС (2) сортів озимої пшениці

Таблиця 1

Відношення приросту сухої речовини з одиниці площі за періоди цвітіння — МС та МС–МВС до приходу ФАР за відповідний період та урожайність озимої пшениці

Варіант	Сорт	Ефективність використання ФАР				Урожай, ц/га
		Період вегетації				
		Цвітіння-МС		МС–МВС		
		г/МДж	%	г/МДж	%	
N ₂₆ P ₂₆ K ₂₆	Миронівська 808	0,49±0,08	100	1,48±0,29	100	33,5±0,6
	Смуглянка	0,54±0,06	110	1,09±0,36	74	33,9±0,4
	Фаворитка	0,62±0,09	127	2,13±0,48*	144	37,4±2,2*
N ₁₂₀ P ₁₁₀ K ₁₁₀	Миронівська 808	0,87±0,08	100	1,87±0,32	100	34,4±1,1
	Смуглянка	2,04±0,16*	234	2,97±0,49*	159	44,5±2,9*
	Фаворитка	2,02±0,13*	232	2,74±0,41*	146	41,4±0,4*

* Різниця достовірна на 95 % рівні значущості з відповідним варіантом сорту Миронівська 808.

сорт Фаворитка статистично достовірно вирізнявся вищими значеннями в період МС–МВС.

Як показали дані дисперсійного аналізу, найбільший вплив на ефективність використання ФАР в посівах озимої пшениці виявляє рівень мінерального живлення, а другим за важливістю фактором виявився період вегетації. Разом з тим, вплив генотипу та взаємодії генотипу і рівня живлення також був достовірним за 95 % значущості.

Висновки

Отже, нові високопродуктивні сорти озимої пшениці Смуглянка і Фаворитка переважають сорт старої селекції Миронівська 808 за ефективністю використання енергії ФАР асиміляційною поверхнею посіву за високо-

го рівня мінерального живлення. Сорт Фаворитка вирізнявся вищими значеннями ефективності засвоєння сонячної енергії також і на низькому фоні мінерального живлення.

Література

1. Моргул В. В., Швартай В. В., Киризий Д. А. Физиологические основы формирования высокой продуктивности зерновых злаков // Физиология и биохимия культурных растений. — 2010. — 42, № 5. — С. 371–392.
2. FAOSTAT. — FAO statistical databases. Food and Agriculture Organization of United Nations. — Rome, Italy. — 2007. — <http://www.fao.org>.
3. Richards R. A. Selectable traits to increase crop photosynthesis and yield of grain crops // Journal of Experimental Botany. — 2000. — 51, Spec. Iss. — P. 447–458.
4. Особливості фотосинтезу і продукційного процесу високоінтенсивних генотипів озимої пшениці / Кірізий Д. А., Шадчина Т. М., Стасик О. О. та ін. — К., Основа. — 2011. — 415 с.
5. Zhu X.-G., Long S. P., Ort D. R. Improving photosynthetic efficiency for greater yield // Annu. Rev. Plant. Biol. — 2010. — 61. — P. 235–261.
6. Morinaka Y., Sakamoto T., Inukai Y. et al. Morphological alteration caused by brassinosteroid intensity increases the biomass and grain production of rice // Plant. Physiol. — 2006. — 141. — P. 924–931.
7. Руководство гидрометеорологическим станциям и постам по актинометрическим наблюдениям. — 3 изд. — Л.: Гидрометеиздат, 1973. — 223 с.
8. Клімат України. — К.: Видавництво Раєвського, 2003. — 343 с.
9. Monteith J. L., Moss C. J. Climate and the efficiency of crop production in Britain // Phil. Trans. R. Soc. Lond. — 1977. — 281. — P. 277–294.
10. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М.: Колос, 1985. — 416 с.

Резюме

В условиях мелкоделяночного опыта изучали эффективность фотосинтетического использования солнечной радиации (ЭИР) при разном уровне минерального питания в посевах сортов озимой пшеницы, отличающихся по продуктивности. Установлено, что внесение минеральных удобрений в дозе $N_{120}P_{110}K_{110}$ в 1,3–3,7 раза, в зависимости от сорта и фазы вегетации, повышает ЭИР по сравнению с дозой $N_{26}P_{26}K_{26}$. Новые высокопродуктивные сорта Смуглянка и Фаворитка в 1,5–2,3 раза превосходили сорт старой селекции Мироновская 808 по величине ЭИР в вариантах с высоким уровнем минерального питания, однако сорт Фаворитка отличался высокими значениями ЭИР также и на низком фоне минерального питания.

В умовах дрібнодільняного досліджу вивчали ефективність фотосинтетичного використання сонячної радіації (ЕВР) за різного рівня мінерального живлення у посівах сортів озимої пшениці, що відрізняються за продуктивністю. Встановлено, що внесення мінеральних добрив в дозі $N_{120}P_{110}K_{110}$ в 1,3–3,7 разів, залежно від сорту і фази вегетації, підвищує ЕВР порівняно із дозою $N_{26}P_{26}K_{26}$. Нові високопродуктивні сорти Смуглянка і Фаворитка в 1,5–2,3 рази переважали сорт старої селекції Миронівська 808 за величиною ЕВР у варіантах з високим рівнем мінерального живлення, однак сорт Фаворитка вирізнявся вищими значеннями ЕВР також і на низькому фоні мінерального живлення.

In the small plot experiment, the radiation use efficiency (RUE) at different levels of mineral nutrition in canopies of winter wheat cultivars differing in seed productivity was studied. It was found that application of mineral fertilizers in doses $N_{120}P_{110}K_{110}$ increases

the RUE by 1.3–3.7 times, depending on the type and phase of vegetation, as comparing with the dose of $N_{26}P_{26}K_{26}$. New high-yielding varieties Smuglyanka and Favorytka had the RUE values 1.5–2.3 times higher than the old selection variety Mironovskaya 808 at high level of mineral nutrition, but the variety Favorytka featured by high values of the RUE at low mineral nutrition as well.

**САВКИН Н. Л., ШЕЛИХОВ П. В., МАРУХА Н. Н., КАПУСТИН А. С.,
МАСЛОВ М. Н.**

Луганский национальный аграрный университет

Украина, 91008, Луганск, ЛНАУ, e-mail: dekanat-fpt@mail.ru

АДАПТАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ГЕНОТИПОВ СОРТОВ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В ОСЕННИЙ ПЕРИОД ВЕГЕТАЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРЕДШЕСТВЕННИКА И РОСТАКТИВИЗИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА

Одним из важных элементов в технологии выращивания сельскохозяйственных культур является обработка семян для посева различными ре-агентами, воздействующих на ростовые процессы и химические процессы, происходящие в процессе прорастания. Первые исследования в этом направлении проводились еще в конце XVII начале XVIII столетия. Так, поместив семена гороха в воду, содержащую соляную кислоту и значительное количество кислорода, Гумбольд в 1793 году к большому своему удивлению, заметил, что они тотчас проросли, что было подтверждено Соссюром в 1804 году [3]. Следовательно, высокая урожайность сельскохозяйственных культур будет результатом стимуляции и применения высокой агротехники [1]. В последнее время в литературе всё чаще встречаются сообщения о стимуляции прорастания и первоначального развития растений как импульсным концентрированным светом [7], так и объемно комбинационными импульсными магнитными полями различной скважности и частотой на целом ряде сельскохозяйственных культур: кукуруза, подсолнечник, озимая пшеница, яровой ячмень, горох, нут, соя, чечевицы, бахчевые, томат [4, 5, 6]. На фоне вышеизложенного нам не менее важно знать и влияние ростактивизирующих препаратов на показатель осенней выживаемости.

Материалы и методы

В эксперименте задействованы два сорта различных агроэкологических групп различных селекционных центров: Луга Вита и Августа. Испытывалось 5 вариантов Р. А. П.: Биогумус, Аракул, Вымпел, Вымпел К и смесь Вымпел К+Аракул. Контроль — без предпосевной обработки семян сортов озимой пшеницы. Исследования закладывались по двум предшественникам: черный пар и кукуруза на зерно в предельно поздний срок сева — 20 октября. Площадь делянки составляла 33 м², размещение делянок рендомизированное, повторность 3-х кратная. С торцевых сторон делянок

отбивались пробные делянки по 0,5 м² для проведения учетов и наблюдений в соответствии с методикой полевого опыта. Фенологические наблюдения за ростом и развитием растений проводились так же в соответствии с методикой полевого опыта по Доспехову [2].

Результаты и обсуждения

Основной целью наших исследований было определение специфичности реакции генотипов сортов мягкой озимой пшеницы различных агроэкологических групп и разных селекционных центров, действия с ростактивизирующими препаратами при взаимодействии с предшественниками на показатель осенней выживаемости. Данные наших наблюдений за динамикой растений озимой пшеницы за осенний период приведены в таблице. Как показывает анализ данных осенний период вегетации осени 2011 года составил на контроле сорта Луга Вита 25 дней, по всем остальным вариантам эксперимента того же сорта он составил 26 дней по предшественнику черный пар. По кукурузе на зерно — 23 дня, в варианте № 5 (Биогумус) — 24, а по остальным четырем вариантам — 26 дней. У сорта Августа по чистому пару и по кукурузе на зерно в датах фенологических наблюдений различий не выявлено.

Следует отметить, что четко прослеживается тенденция влияния Р.А.П. на показатель осенней выживаемости растений озимой пшеницы как по предшественнику, так и по вариантам эксперимента в зависимости от генотипа сорта.

Так, показатель осенней выживаемости у сорта Луга Вита на контроле по чистому пару был равен 97,6%, а по непаровому предшественнику он снизился до 96,2%, т.е. на 1,4%. Выявленная тенденция указывает на тот факт, что предшественник даже за такой короткий осенний период вегетации оказывает влияние на показатель осенней выживаемости растений.

У сорта Августа на контроле по чистому пару показатель осенней выживаемости несколько ниже чем у сорта Луга Вита и равен 97,0%, а по не пару — 95,7%, т.е. также снизился на 1,3%. Данный факт подтверждает ранее выявленную тенденцию по сорту Луга Вита, однако следует обратить внимание и на то, что генотип сорта Августа принадлежит к интенсивному типу сортов.

Предпосевная обработка семян сорта Луга Вита препаратом Биогумус (вариант 5) по чистому пару обусловила повышение показателя осенней выживаемости по отношению к контролю всего на 0,3%, по непаровому предшественнику того же варианта на — 1,4%, т.е. практически в 5 раз выше. У сорта Августа по чистому пару показатель осенней выживаемости уже составил 97,8%, что на 0,8% выше, чем на контроле. По отношению к сорту Луга Вита того же варианта эффект от применения Р.А.П. Биогумус практически в 3 раза оказался выше. Выявленная тенденция указывает на специфичность реакции генотипа сорта Августа к применению данного препарата по чистому пару. По непаровому предшественнику анализи-

Таблица

Динамика растений различных сортов мягкой озимой пшеницы за осенний период вегетации в зависимости от предшественника и Р.Р.Р. (Урожай 2011 г.)

Сорт	Вариант	Вариант	Предшественник							
			Черный пар				Кукуруза на зерно			
			Количество взходящих растений, шт/м ²	Количество растений на период П.О.В., шт/м ²	% осенней выживаемости	% эффективности действия препарата	Количество взходящих растений, шт/м ²	Количество растений на период П.О.В., шт/м ²	% осенней выживаемости	% эффективности действия препарата
Луга Вита	1	Вк+Аракул	510	502	98,4	0,82	496	489,0	98,6	2,49
	2	Вымпел К	501	491	98,0	0,41	485	476	98,1	1,98
	3	Вымпел	489	478	97,9	0,31	483	473	97,9	1,77
	4	Аракул	504	494	98,0	0,41	491	483	98,4	2,29
	5	Биогумус	469	459	97,9	0,31	467	456	97,6	1,45
	6	Контроль	461	450	97,6	-	448	431	96,2	-
		Среднее	489	479	98,0	0,41	478	468	97,9	1,77
Августа	1	Вк+Аракул	494	488	98,8	1,86	495	489	98,9	3,34
	2	Вымпел К	486	479	98,5	1,55	488	482	98,7	3,13
	3	Вымпел	482	473	98,1	1,13	483	475	98,3	2,72
	4	Аракул	489	482	98,6	1,65	487	481	98,5	2,92
	5	Биогумус	478	467	97,8	0,82	464	450	97,1	1,46
	6	Контроль	460	446	97,0	-	437	418	95,7	-
		Среднее	482	473	98,1	1,13	476	466	97,9	2,30

руемый показатель в варианте 5 был равен 97,1%, что на 1,4% выше, чем на контроле. Разница между вариантами в разрезе сортов идентична, и эффективность применяемого препарата так же практически одинакова.

Применение препарата Аракул (вариант 4) у сорта Луга Вита по чистому пару показатель осенней выживаемости составил 98,0%, а на контроле 97,6%. По отношению к контролю эффект от применения данного препарата равен 0,41%, т.е. незначительно, но выше, чем в предыдущем варианте — 0,31%. Даже в этом случае отмечаются различия в специфичности реакции генотипа на применяемый Р.Р.Р. По непаровому предшественнику показатель осенней выживаемости уже составил 98,4%, т.е. на 0,4% выше, чем по пару и эффективность его в данном варианте составила 2,29%. По отношению к показателю эффективности по пару он в 5 с лишним раз выше. У сорта Августа в варианте 4 (Аракул) по чистому пару показатель осенней выживаемости был равен 98,6%. По отношению к контролю эффект от применения препарата Аракул составил 1,65%, т.е. практически в 2 раза выше, чем в предыдущем варианте — 0,82%. По кукурузе

на зерно в том же варианте 4 (Аракул) анализируемый показатель был равен 98,5 %, т. е. на 2,8 % выше, чем на контроле. Эффективность этого Р.Р.Р. в данном варианте была равна 2,92 %. По отношению к предыдущему варианту это более чем в 2 раза выше. Следует отметить, что по непаровому предшественнику эффективность применяемого препарата выше на 79 %, чем по чистому пару.

Показатель осеней выживаемости в варианте 3 (Вымпел) по черному пару составил 97,9 %, т. е. идентично показателю варианта 5 (Биогумус), показатель эффективности применяемого препарата так же одинаков с вариантом 5. Однако по непаровому предшественнику показатель осенней выживаемости так же составил 97,9 %. В данном варианте показатель эффективности применения Р.Р.Р. Вымпел по отношению к контролю составил 1,77 %. Данный факт указывает на то, что по непаровому предшественнику эффективность Р.Р.Р. Вымпел выше, чем по пару в 4,7 раза. У сорта Августа в варианте 3 (Вымпел) по чистому пару показатель осенней выживаемости был равен 98,1 %. По отношению к контролю эффект от применения препарата Вымпел составил 1,13 %, т. е. на 0,52 % ниже, чем в предыдущем варианте. По кукурузе на зерно в том же анализируемый показатель был равен 98,3 %, т. е. на 2,72 % выше, чем на контроле. Эффективность этого Р.Р.Р. в данном варианте была равна 2,72 %. По отношению к предыдущему варианту это было на 0,2 % выше. Следует отметить, что по непаровому предшественнику и в этом варианте эффективность применения Р.Р.Р. существенно ниже, чем по непаровому предшественнику. Одновременно с выше отмеченной тенденцией следует отметить и специфичность реакции генотипов сортов на конкретный ростактивизирующий препарат.

Предпосевная обработка семян Р.А.П. Вымпел К (вариант 2) у сорта Луга Вита по пару обусловила показатель осенней выживаемости растений на уровне 98,0 %, как и в варианте 4 (Аракул). Однако по непаровому предшественнику мы отмечаем довольно специфическую реакцию генотипа сорта Луга Вита на предпосевную обработку семян. В данном случае показатель осенней выживаемости был равен 98,1 %, а показатель эффективности составил 1,98 %, т. е. в 4,8 раза выше, чем по чистому пару. У сорта Августа в варианте 2 (Вымпел К) по чистому пару показатель осенней выживаемости был равен 98,5 %. По отношению к контролю эффект от применения препарата Вымпел К составил 1,55 %, т. е. на 0,42 % выше, чем в предыдущем варианте. По кукурузе на зерно в варианте 2 (Вымпел К) анализируемый показатель был равен 98,7 %, т. е. на 3,0 % выше, чем на контроле. Эффективность этого Р.Р.Р. в данном варианте была равна 3,13 %. По отношению к предыдущему варианту это было на 0,41 % выше, так же выше и в 4^м варианте (Аракул). Этот факт еще раз подтверждает специфичность реакции генотипа сорта на конкретный Р.Р.Р. в совокупности с предшественником.

Совместное применение двух ростактивизирующих препаратов в варианте 1 (Вымпел К+Аракул) по черному пару на сорте Луга Вита обусловили показатель осенней выживаемости на уровне 98,4%. По отношению к контролю эффект от применения данного препарата равен 0,82%, т. е. в 2 раза выше, чем в предыдущем варианте — 0,41%. Отмечаются различия в специфичности реакции генотипа на применяемый Р.Р.Р. По непаровому предшественнику показатель осенней выживаемости уже составил 98,6%, т. е. на 0,2% выше, чем по пару и эффективность его в данном варианте составила 2,49%. По отношению к показателю эффективности применения Р.Р.Р. по пару он в 3 раз выше. У сорта Августа в варианте 1 (Вымпел К+Аракул) по чистому пару показатель осенней выживаемости был равен 98,8%. По отношению к контролю эффект от применения препарата Аракул составил 1,86%, т. е. максимальный по всем предыдущим вариантам эксперимента. По кукурузе на зерно анализируемый показатель был равен 98,9%, т. е. максимальный по эксперименту и на 3,0% выше, чем на контроле. Эффективность этого Р.Р.Р. в данном варианте составила 3,34%. По отношению к предыдущему варианту это на 6,7% выше, что указывает на существенность различий между вариантами. Выявленная тенденция еще более аргументировано указывает на различие в реакциях генотипов сортов на применяемые препараты. Следует отметить и тот факт, что по непаровому предшественнику эффективность применяемых ростактивизирующих препаратов существенно выше, чем по чистому пару.

Из проведенного анализа необходимо отметить следующее:

Специфичность проявления реакции генотипов сортов мягкой озимой пшеницы на показатель осенней выживаемости предопределяется как самим Р.А.П. так и характером предшественника. Показатель эффективности применяемых Р.Р.Р. зависит как от продолжительности осеннего периода вегетации, так и от биологической активности самого препарата. Наиболее перспективным вариантом эксперимента по предварительным данным следует выделить совместное применение двух препаратов (Вымпел К+Аракул).

Литература

1. *Благовецкий А. В.* О природе и характере действия биогенных стимуляторов. — М: Сельхозиздат, 1997. — 87 с.
2. *Доспехов Б. А.* Методика полевого опыта. — М: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
3. *Леман Е., Айхеле Ф.* Физиология прорастания семян злаков (перевод с немецкого). — Л.: Сельхозиздат, 1939. — 211 с.
4. *Савкин Н. Л., Савкина Н. Н., Денисенко А. И., Шелихов П. В. и др.* Рост активирующий препарат «Вымпел» и его влияние на урожайность и массу 1000 семян мягкой озимой пшеницы. Материалы XV международ. симпозиума нетрадиционное растениеводство, селекция, экология, эниология и здоровье. Симферополь: Таврия, 2006. — С. 410–412.

5. Савкин Н.Л., Кочетков В.С. и др. Направленное изменение хозяйственно-ценных признаков сои. Материалы отчётной научно-технической конференции сотрудников ЛСХИ по итогам 1994 г. — Луганск, 1995. — С. 38.

6. Савкин Н.Л., Иванин Г.В. Влияние объемно комбинационных импульсных магнитных полей на урожай огурца//36. наук. праць Луганського СГІ. — Луганск, 1997. — Ч. 2. — С. 32–34.

7. Шахов А.А., Калига Г.Т., Юсупов М. Предпосевное облучение семян светом. — Агробіологія. — 1965. — № 2. — С. 32–47.

Резюме

В статье приведены результаты адаптации различных генотипов сортов мягкой озимой пшеницы в зависимости от предшественника и ростактивизирующего препарата в осенний период вегетации.

В статті приведені результати адаптації різних генотипів сортів м'якої озимої пшениці в залежності від попередника та рістактивізуючого препарату в осінній період вегетації.

The article is devoted to the results of adaptation of different genotypes kinds of soft winter wheat according their precursors and preparation which stimulates the growth in autumn period of vegetation.

САНДЕЦЬКА Н.В., МИХАЛЬСЬКА Л.М., ШВАРТАУ В.В.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,

Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: lsnv@ukr.net

ВПЛИВ ПОЗАКОРЕНЕВОГО ПІДЖИВЛЕННЯ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

Оптимізація живлення рослин макро- і мікроелементами потребує удосконалення для досягнення максимально можливої врожайності сорту та поліпшення якості зерна [3–5]. Вирішення цього питання можна досягти шляхом позакореневого підживлення [4, 6].

Ефективним для підвищення урожайності та вмісту білка в зерні є поділ загальної дози азотних добрив, при чому частину азоту вносять на початку вегетації озимої пшениці для забезпечення рослин цим елементом в період їх вегетативного росту, а іншу — в період формування генеративних органів [2, 5]. Ефективність використання рослинами основних елементів живлення залежить від багатьох чинників і посилюється при підвищенні рівня збалансованості між елементами живлення, зокрема азотом, фосфором, калієм, сіркою та мікроелементами. Відзначимо важливість доступного для рослин фосфору на початку вегетації. Інгібування поглинання іонів у другій половині вегетації при несприятливих умовах вирощування, що викликають блокування функціонування кореневої системи (перезволоження, посуха, високі температури тощо), зумовлює високу ефективність позакореневого внесення елементів мінерального живлення [5].

Слід відмітити підвищену в останні роки роль сірки у живленні озимої пшениці, яка на рівні з іншими елементами відіграє значну роль у ме-

таболізмі рослин. Тому забезпечення підвищення врожаю озимої пшениці та якості зерна пов'язано також і з оптимізацією умов сірчаного живлення [7].

У зв'язку з цим, метою нашої роботи було дослідження ролі позакореневого внесення добрив у формуванні продуктивності озимої пшениці.

Матеріали та методи

Польові досліді проводили на посівах Дослідного сільськогосподарського виробництва Інституту фізіології рослин і генетики НАН України з озимою пшеницею (*Triticum aestivum* L.) сортів Подолянка, Переяславка, Смуглянка та Фаворитка. Ґрунт дослідних ділянок темно-сірий опідзолений, піщаний легкосуглинковий. На час посіву вміст гумусу в ґрунті становив 1,8%, азоту — 1,6%, фосфору — 8,6 мг/100 г, калію — 9 мг/100 г, сірки загальної — 1,72 мг/100 г. Площа дослідної ділянки становила 10 м². Перед посівом насіння протруювали сумішню фунгіциду «Максим Стар» (1,5 л/т) та інсектициду «Круїзер» (0,4 л/т). Протягом вегетації рослини обробляли фунгіцидами «Альто Супер» у фазу кушіння та «Амістар Екстра» у фазу прапорцевого листка. Позакоренево азот вносили у вигляді карбаміду, фосфор — монокалійфосфату, сірку — сульфату калію. Загальні дози позакореневого внесення мінеральних добрив у дослідях складали: N амідний — 30 кг/га, P₂O₅—10 кг/га, S — 10 кг/га 20 кг/га. У контрольному варіанті проводили обробку азотом (карбамід) — 30 кг/га по діючій речовині.

Визначення структури врожаю здійснювали шляхом снопового аналізу. Повторність дослідів чотирьох-шестикратна [1].

Результати та обговорення

Позакореневе внесення добрив протягом вегетаційного періоду в усіх варіантах досліді здійснювали тричі: перше — навесні у фазу кушіння, друге — у фазу виходу в трубку, третє — у фазу прапорцевого листка. Було відмічено, що у контрольних варіантах, у яких позакореневе підживлення проводили тільки карбамідом, урожайність рослин озимої пшениці в усіх досліджених сортах була близькою (рис.).

Застосування монокалійфосфату призводило до статистично достовірного підвищення зернової продуктивності на 9% у сортів інтенсивного типу Подолянка і Переяславка та на 11% у сортів високоінтенсивного типу Смуглянка і Фаворитка, у порівнянні з відповідним контролем.

Врожайність у варіантах з позакореневим підживленням рослин монокалійфосфатом і сульфатом калію, підвищувалася у всіх досліджених нами сортів озимої пшениці, особливо у сортів високоінтенсивного типу. Так, внесення сульфату калію позакоренево в дозі 10 кг/га по діючій речовині у сортів озимої пшениці Подолянка та Переяславка забезпечувало приріст урожаю зерна в середньому на 12,5%, тоді як у сортів Фаворитка та Смуглянка підвищення врожайності відбувалося в середньому на 17,5%.

Позакореневе підживлення рослин озимої пшениці сіркою у вищій дозі (20 кг/га) виявилось більш ефективним. Таким чином приріст урожаю

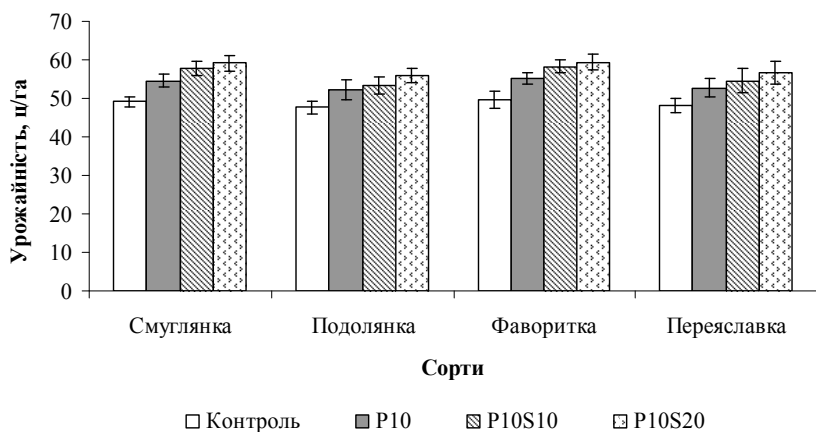


Рис. Вплив позакореневого внесення добрив на врожайність рослин озимої пшениці, ц/га. Контроль та фон у варіантах — N₃₀ у формі карбаміду

Таблиця

Морфологічні показники урожайності озимої пшениці при позакореному підживленні рослин комплексом добрив

Варіант	Кількість про- дуктивних сте- бел	Кількість ко- лосків в го- ловному ко- лосі, шт	Кількість зер- ен в голов- ному колосі, шт	Вага зерна з рослини, г	Маса 1000 зерен, г
Смулянка					
Контроль, N ₃₀	4,0±0,2	17,9±0,3	38,7±0,8	3,9±0,2	42,2±0,8
Позакорене- ве підживлення, N ₃₀ P ₁₀ S ₂₀	4,6±0,2	18,5±0,4	47,6±1,0	4,6±0,2	49,6±1,0
Подолянка					
Контроль, N ₃₀	3,5±0,2	17,0±0,3	36,9±0,7	3,2±0,1	33,2±0,7
Позакорене- ве підживлення, N ₃₀ P ₁₀ S ₂₀	3,8±0,2	17,3±0,3	39,7±0,8	3,5±0,2	36,4±0,7
Фаворитка					
Контроль, N ₃₀	4,2±0,2	18,1±0,4	39,2±0,8	4,0±0,2	43,4±0,9
Позакорене- ве підживлення, N ₃₀ P ₁₀ S ₂₀	4,8±0,2	18,6±0,4	48,2±1,0	4,8±0,2	50,2±1,0
Переяславка					
Контроль, N ₃₀	3,7±0,2	17,4±0,3	36,3±0,7	3,6±0,1	34,2±0,7
Позакорене- ве підживлення, N ₃₀ P ₁₀ S ₂₀	4,0±0,2	17,9±0,3	40,1±0,8	3,9±0,2	37,8±0,8

у сортів Фаворитка та Смуглянка підвищувався на 20 %, у сорту Переяславка на 18 %, а у сорту Подолянка тільки на 13 % відносно контролю. Відзначимо, що в наших дослідях сорт Фаворитка характеризувався найвищою врожайністю у всіх варіантах, найбільш чутливими до позакореневого підживлення виявилися сорти високоінтенсивного типу Фаворитка та Смуглянка. Високий рівень реакції рослин на позакореневе внесення сульфатів свідчить про дефіцит сірки на легких бідних ґрунтах Дослідного сільськогосподарського виробництва.

Позакореневе підживлення рослин комплексом добрив із дозою внесення $N_{30}P_{10}S_{20}$ вплинуло і на кількісні показники елементів продуктивності.

Показано, що показники продуктивності озимої пшениці всіх сортів підвищувалися порівняно з контрольними варіантами. Результати структурного аналізу продуктивності контрольних та дослідних варіантів наведено у таблиці.

Досліджені показники структурного аналізу снопового матеріалу були вищими у високоінтенсивних сортів Смуглянка та Фаворитка. Більша зернова продуктивність рослин та продуктивна кущистість призводили до підвищення урожайності даних сортів озимої пшениці.

Таким чином, отримані дані свідчать, що позакореневе підживлення карбамідом, монокалійфосфатом і сульфатом калію із загальною максимальною дозою внесення $N_{30}P_{10}S_{20}$ сприяло підвищенню врожайності рослин озимої пшениці, особливо сортів високоінтенсивного типу.

Література

1. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М.: Агропромиздат, 1985. — 252 с.
2. Минеев В. Г., Павлов А. Н. Агрохимические основы повышения качества зерна. — М.: Колос, 1981. — С. 121–271.
3. Моргунов В. В., Логвиненко В. Ф. Мутационная селекция пшеницы. — К.: Наукдумка, 1995. — 627 с.
4. Моргунов В. В., Швартай В. В., Кірізії Д. А. Фізіологічні основи отримання високих врожаїв пшениці // Физиология и биохимия культурных растений. — 2008. — 40, № 6. — С. 463–479.
5. Моргунов В. В., Швартай В. В., Кірізії Д. А. Фізіологічні основи формування високої продуктивності зернових злаків // Физиология растений: Проблемы та перспективи розвитку. — Т. 1. — К.: Логос, 2009. — С. 11–42.
6. Dwyer L. M., Anderson A. M., Ma B. L. and all. Quantifying the Non-linearity in Chlorophyll Meter Response to Corn Leaf Nitrogen Concentration // Can. J. Plant Sci. — 1995. — 75 (1). — P. 179–182.
7. Saito K. Sulfur assimilatory metabolism. The long and smelling road // Plant Physiol. — 2004. — 136. — P. 2443–2450.

Резюме

Досліджували вплив позакореневого підживлення добривами на врожайність сортів озимої пшениці високоінтенсивного та інтенсивного типу. Встановили, що позакореневе підживлення карбамідом, монокалійфосфатом і сульфатом калію сут-

тево підвищувало продуктивність всіх досліджуваних сортів, особливо сортів озимої пшениці високоінтенсивного типу Смуглянка та Фаворитка.

Исследовали влияние внекорневой подкормки удобрениями на урожайность сортов озимой пшеницы высокоинтенсивного и интенсивного типа. Установили, что внекорневые подкормки карбамидом, монокалийфосфатом и сульфатом калия существенно повышали продуктивность всех исследуемых сортов, особенно сортов озимой пшеницы высокоинтенсивного типа Смуглянка та Фаворитка.

The effects of foliar nutrition by urea, monopotassium phosphate and potassium sulphate fertilizer on yield of winter wheat varieties were investigated. It was shown that foliar nutrition substantially increased productivity of all varieties studied, in particular, in high-intensity type Smugljanka and Favoritka.

СИГІДІНЕНКО Л.І., МЕДВІДЬ О.М.

Луганський національний аграрний університет

Україна, 91008, м. Луганськ, ЛНАУ, e-mail: olgamed060283@rambler.ru

ВПЛИВ КОМПЛЕКСНИХ МІКРОДОБРІВ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ РОСЛИН *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH

В умовах інтенсивної хімізації сільського господарства зростання врожаїв супроводжується збільшенням виносу всіх елементів живлення, в тому числі мікроелементів. Це підвищує потребу в застосуванні окремих мікродобрив на ґрунтах не тільки з недостатнім, але і помірним вмістом відповідних мікроелементів у доступній рослинам формі. Більш того, правильне застосування мікродобрив в даний час є невід'ємною частиною сучасної технології рослинництва і запорукою отримання високого врожаю хорошої якості [1]. За використання сучасних методів молекулярної генетики та генетичної інженерії арабідопсис є джерелом генів при створенні цінного вихідного матеріалу для селекції рапсу, рису, лимону, сої та інших культурних рослин [2–5]. Подібність генного складу та нуклеотидних послідовностей ДНК у арабідопсиса та інших представників родини *Brassicaceae* дає можливість використовувати його для практичної селекції, дозволяє без особливих побоювань переносити відомості і висновки, отримані на *A. thaliana*, на інші види рослин.

Матеріали та методи

В дослідженнях використано лінію Landsberg *erecta* (*er-1*, NW20), яку було надано Європейським центром зразків *A. thaliana* у Великій Британії (European Arabidopsis Stock Center (EASC), UK) [5]. Дослідження проводили в лабораторії світлокультури Луганського НАУ. Рослини культивували при температурі 18–22°C. Освітлення було цілодобове, освітленість — 4000 люкс. Всі експерименти проводили з одночасною висадкою рослин в ґрунт. Обробіток здійснювали комплексними мікродобривами в фазі розеткового листя та початку бутонізації з розрахунку 0,2 мл/м² розчину на 30 мл води, характеристика яких наведена в табл. 1. Комплексні мікродо-

Таблиця 1

Склад комплексних мікродобрив

Елементи		Склад, г/л
Вміст загального азоту амідна форма аміачна форма нітратна форма	N	232
	NH ₂	62
	NH ₄	46
	NO ₃	124
Фосфор	P ₂ O ₅	85
Калій	K ₂ O	58
Сірка	SO ₃	25
Залізо	Fe	6
Мідь	Cu	12
Цинк	Zn	12
Марганець	Mn	6
Бор	B	6
Кобальт	Co	0,05
Молібден	Mo	0,12

брива мають кислотність pH=2, потрібна нам pH=5, тому перед обприскуванням до NPK + мікро додавали KOH, а до NPK + мікро + CO₂ — K₂CO₃.

Результати та обговорення

В результаті проведених досліджень встановлено, що кількість насіння з рослин лінії NW20 при обробітку добривом NPK + мікро варіює від 132 до 966 і в середньому складає 486,23 штук на одну рослину. Без обробітку кількість насіння з рослин лінії NW20 склала в середньому 328,55 штук. Кількість насіння з рослин лінії NW20 при обробітку мікродобривом NPK + мікро + CO₂ складає приблизно 469,42 штук на одну рослину, варіюючи від 156 до 746 шт. Різниця середніх фенотипових значень ознак є характеристикою сили дії комплексних мікродобрив у порівнянні з контролем. Важливо, що відмінності в числі насіння з рослини у експериментах значущі (табл. 2).

Таблиця 2

Кількість насіння з рослини лінії NW20

	Насіння з рослини M±m, шт.	Ліміти, шт.	Коефіцієнт варіації (cv), %	t-критерій Стьюдента
Контроль	328,55±34,83	56–770	59,03	
NPK + мікро	486,23±34,34	132–966	39,32	3,22**
NPK + мікро + CO ₂	469,42±27,82	156–746	32,99	3,16**

Пояснення: різниця значуща при **0,001 < p < 0,01.

Таким чином, встановлено, що застосування комплексних добрив NPK + мікро значно підвищує врожайність рослин арабідопсиса в середньому на 158 шт. насінин з рослини, а внесення NPK + мікро + CO₂ підвищує кількість насінин з рослин арабідопсиса в середньому на 141 шт.

Висновки

1. Доведено, що при застосуванні NPK + мікро продуктивність рослин *A. thaliana* підвищується на 48 % порівняно з контролем.
2. Встановлено, що при внесенні NPK + мікро + CO₂ кількість насінин з рослини збільшується на 42 %.

Література

1. *Микроэлементы в сельском хозяйстве* / Под редакцией С. Ю. Булыгина. — 3-е изд. доп. и испр. — Д.: Січ, 2007. — 100 с.
2. Радчук В. В., Блюм Я. Б. Успехи и проблемы генетической трансформации растений семейства крестоцветных // Цитология и генетика. — 2005. — № 3. — С. 13–29.
3. Norico K., Jun-Ichi J., Atsushi M., Jasuo N., Makato M. The SCARECROW gene's role in asymmetric cell division in rice plants // Plant J. — 2003. — Vol. 36, № 1. — P. 45–54.
4. Sandhu D., Tasma I. M., Fransch R., Bhattacharyya M. K. Systemic acquired resistance in soybean is regulated by two proteins, orthologous to *Arabidopsis* NPR1 // BMC Plant Biology. — 2009. — Vol. 9, № 105. — P. 1471–1484.
5. Shimizu K. K., Purugganan M. D. Evolutionary and ecological genomics of *Arabidopsis* // Plant Physiology. — 2005. — Vol. 138. — P. 578–584.
6. *Seed List*. The Nottingham Arabidopsis Stock Centre. — Nottingham: The University of Nottingham, 1994. — 147 p.

Резюме

Доказано, что при использовании NPK + микро продуктивность растений *A. thaliana* повышается на 48 %, а при внесении NPK + микро + CO₂ количество семян с растений увеличивается на 42 % в сравнении с контролем.

Доведено, что при застосуванні NPK + мікро продуктивність рослин *A. thaliana* підвищується на 48 %, а при внесенні NPK + мікро + CO₂ кількість насінин з рослини збільшується на 42 % порівняно з контролем.

It is proved that the use of NPK + micro productivity of plants *Arabidopsis* increased at 48 %, while introduction of NPK + micro + CO₂ quantity of seeds from plants growing at 42 % compared with the control.

СІЧКАР В. І.¹, ЛАВРОВА Г. Д.¹, ГАНЖЕЛО О. І.¹, ХОРСУН І. А.²

¹ Селекційно-генетичний інститут — Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення Україна, 65036, Одеса, Овідіопольська дорога, 3,
e-mail: bobovi.sgi@ukr.net

² Миколаївський Державний аграрний університет
Україна, 54010, Миколаїв, вул. Паризької Комуні, 9

ЗАЛЕЖНІСТЬ УРОЖАЙНОСТІ ТА ВМІСТУ БІЛКА І ОЛІЇ В НАСІННІ СОЇ ВІД КЛІМАТИЧНИХ ФАКТОРІВ НА ПІВДНІ СТЕПУ УКРАЇНИ

На початку ХХІ сторіччя соя зайняла досить значне місце в аграрному секторі України. Про це свідчать результати росту посівних площ і валових зборів культури. За період з 2001 до 2011 року виробництво сої зрос-

ло з 73,9 до 2200 тис. тонн, тобто в 30 разів. За площами посіву сої Україна вийшла на перше місце в Європі. Така динаміка збільшення виробництва культури в значній мірі обумовлена впровадженням нових сортів, добре пристосованих до різних умов. За рахунок сої, вирощеної в Україні, повністю забезпечуються потреби птахівництва у високобілкових кормових добавках. Крім того, більше половини вирощеної сої експортується до країн Західної Європи, що приносить більше 500 млн доларів США.

Глобальні зміни клімату, які в останні десятиріччя спостерігаються на нашій планеті, вимагають якісно нових підходів до створення сортів сільськогосподарських культур. Суттєве зростання амплітуди коливань таких погодних факторів як температура, сума опадів та їх перерозподіл за сезонами і місяцями року потребує мінімальної реакції генотипів за продуктивністю та темпами росту і розвитку.

Виходячи з цього, наша селекційна програма направлена на створення принципово нових сортів сої, особливістю яких є висока пристосованість до посушливих умов вирощування. Головне завдання нашої селекційної програми полягає в комбінуванні різних генів адаптивності та стійкості з метою виведення високопродуктивних, посухостійких, краще пристосованих до місцевих умов сортів, насіння яких відзначається високими кормовими та харчовими якість. Завданням даного нашого дослідження було виявлення взаємозалежності між такими ознаками як урожайність, вміст білка та олії в насінні сої та дією кліматичних факторів, а також пошук генотипів з властивістю зберігати генетично обумовлений рівень продуктивності, білковості та олійності за широкого діапазону умов вирощування.

Матеріал і методика

У нашому дослідженні ми на протязі 6 років (2004–2008 і 2010) визначали урожайність та вміст білка і олії в насінні 34 сортів сої, з яких 29 вітчизняного походження і 5 — іноземного (США). У 2009 році біохімічний аналіз насіння не проводили. Серед взятих для дослідження сортів 11 відносились до ранньостиглих (тривалість вегетації 101–110 днів), 13 — до середньоранніх (111–120 днів) і 10 сортів — до середньостиглих з періодом вегетації 121–130 днів. Сорти вирощували в розсаднику екологічного сорто випробування у 5-кратній повторності 4-рядковими ділянками довжиною 10 м з міжряддями 45 см.

Для визначення параметрів стабільності ми використали широковживаний метод, запропонований Ебергардом і Расселом для оцінки стабільності урожайності [1].

В доповнення до запропонованих Ебергардом і Расселом показників додали такі характеристики як середній багаторічний урожай, мінімально гарантований за роки випробування урожай і максимальний урожай за ці ж роки [2].

Для характеристики погодних умов року використали середньомісячні значення опадів та температури повітря, суму опадів і суму активних тем-

ператур за період вегетації і окремі його місяці. Гідротермічний коефіцієнт розраховували за формулою $ГТК = (\Sigma_{\text{опадів}} / \Sigma_{\text{акт.т-р}}) * 10$ [3].

Дисперсійний аналіз мінливості величини урожаю, вмісту білка та збору білка з гектара в залежності від генотипу сорту і умов року вирощування, а також кореляційний аналіз проводили за загальноприйнятою методикою [4].

Результати та обговорення

Погодні умови під час вегетації сої за роки проведення досліджень були дуже різноманітними, від гострої посухи до надмірного зволоження (табл. 1)

Таблиця 1

Метеорологічні умови за період вегетації сої (2006–2010 рр.)*

Показник	Рік	Місяць						Сума
		Квітень	Травень	Червень	Липень	Серпень	Вересень	
Опади, мм	2004	32,9	85,2	59,4	110,5	37,9	17,7	343,6
	2005	0,0	38,0	30,0	9,8	75,3	0,0	153,1
	2006	18,7	59,4	42,6	95,5	94,9	27,8	338,9
	2007	35,8	0,8	17,0	5,7	39,1	31,2	129,6
	2008	43,2	5,0	99,0	102,8	2,4	118,4	370,8
	2010	39,2	50,0	34,0	102,5	32,0	67,3	325,0
	Середньо-багаторічна норма	27,0	35,0	55,0	46,0	34,0	36,0	233,0
Температура повітря, °С	2004	9,8	14,2	19,0	21,4	21,8	17,3	3162,4
	2005	9,5	16,9	19,3	23,1	22,9	19,4	3395,9
	2006	10,1	15,1	20,1	17,7	22,9	17,5	3157,7
	2007	10,3	17,8	23,1	24,6	24,5	22,6	3753,9
	2008	10,2	15,0	21,3	22,5	24,0	16,5	3346,5
	2010	10,3	16,7	21,9	24,5	26,2	17,9	3592,4
	Середньо-багаторічна норма	9,0	15,3	19,6	21,4	21,2	17,1	3165,9

* Дані за 2009 рік не розглядаються, оскільки цього року не проводили біохімічний аналіз насіння.

Найбільш вологими і прохолодними були 2004 і 2006 роки, коли сума опадів за вегетаційний період більше ніж у 1,5 рази перевищила середнє багаторічне значення, а середньомісячні температури і їх сума знаходились на рівні норми. Решта років видались жаркішими, а 2005 і 2007 були екстремально посушливими. Розподіл опадів за місяцями також був вкрай нерівномірним. Все це вплинуло як на вміст білка і олії в насінні сої, так і на урожай. Розмах мінливості за цими показниками був досить значним. Величини індексів середовища для урожайності, білковості та олійності дуже різнилися за роками (табл. 2). Чим більша величина індексу, тим сприятливіший рік для проявлення ознаки. Видно, що для підвищення урожайності

сприятливими були роки з доброю вологозабезпеченістю. Вміст олії мало залежав, а вміст білка практично не залежав від таких факторів як сума активних температур і сума опадів за період вегетації. Найвищий вміст білка у досліджуваних сортів був у найбільш посушливому 2007 році, коли склалися кліматичні умови, характерні для зони напівпустелі. Проте у майже такому ж посушливому 2005 році вміст білка був найнижчим. Два майже однакові за вологозабезпеченістю і сумою активних температур роки, 2004 і 2006, відрізнялись на 0,05 рівні як за урожайністю, так і за білковістю та олійністю насіння сої. Те ж саме можна сказати і про 2008 та 2010 роки.

Таблиця 2

Мінливість урожайності, білковості та олійності сортів сої екологічного випробування СГІ в залежності від умов року

Рік	ГТК* (за період травень– серпень)	Урожайність		Вміст білка в насінні		Вміст олії в насінні	
		X середнє* ц/га	I _j	X середнє* %	I _j	X середнє* %	I _j
2004	1,25	20,45±0,40	8,48	37,89±0,25	0,10	19,67±0,20	-1,17
2005	0,61	7,73±0,51	-4,24	35,15±0,28	-2,64	21,53±0,16	0,69
2006	1,26	16,14±0,68	4,16	38,41±0,24	0,62	21,97±0,18	1,13
2007	0,23	2,54±0,16	-9,44	39,04±0,21	1,25	19,95±0,13	-0,89
2008	0,82	15,08±0,46	3,11	37,50±0,20	-0,29	20,25±0,19	-0,59
2010	0,80	9,90±0,68	-2,07	38,74±0,23	0,95	21,66±0,16	0,82
НІР ₀₅		1,35		0,56		0,95	

* За Г. Т. Селяніновим і С. А. Сапожніковою [3], величина ГТК за літній період більше 1,6 характеризує надмірно вологу зону, 1,6–1,3 — лісову вологу зону, 1,3–1,0 — Лісостеп (недостатнє зволоження), 1,0–0,7 — Степ (посушливу зону), 0,7–0,4 — сухий Степ (дуже посушливу зону), 0,4 і менше — напівпустелю і пустелю.

Кореляційний аналіз також показав, що найбільше залежить від погодних умов урожайність сої (табл. 3), а найменше — її білковість. Між урожайністю та вмістом білка і олії проявилась від’ємна кореляційна залежність. Від’ємною була також кореляція між білковістю та олійністю, причому у сортів з однаковою урожайністю і за однакових умов ця залежність проявляється сильніше.

Таблиця 3

Коефіцієнти кореляції між урожайністю, білковістю, олійністю сої та погодними умовами 2004–2010 років

Залежність між показниками	Парні коефіцієнти	Частинні коефіцієнти другого порядку
ГТК — урожайність	0,94**	0,99**
ГТК — вміст олії	0,18	0,88*
ГТК — вміст білка	0,04	0,53
Урожайність — вміст олії	-0,10	-0,29
Урожайність — вміст білка	-0,001	-0,53
Вміст олії — вміст білка	-0,20	-0,55

* коефіцієнт кореляції достовірний на 0,05 рівні; ** коефіцієнт кореляції достовірний на 0,01 рівні.

Дисперсійний аналіз показав, що між досліджуваними сортами існують достовірні відмінності за урожайністю, олійністю та білковістю. Тривалість періоду вегетації не є визначальною для величини цих показників. Для виробництва важливо, щоб сорт забезпечував високий вихід білка чи олії з одиниці площі, тому ми відібрали генотипи з оптимальним поєднанням продуктивності та якості насіння. У таблиці 4 наведено показники продуктивності та параметри стабільності десяти кращих за урожайністю сортів сої за період з 2004 по 2010 рік в умовах південного Степу України (жирним шрифтом виділені значення, що входять у першу десятку). Величини b_1 визначають загальну тенденцію зміни досліджуваної ознаки за різних умов. Ступінь стабільності цієї тенденції вимірюється величиною дисперсії фактичних даних навколо лінії регресії ($S^2 d_i$).

Таблиця 4

Результати аналізу урожайності, білковості та олійності сортів сої в 2004–2010 роках (кращі сорти)

Сорт	Урожайність $X_{\text{ср}}$, ц/га	Збір олії з гектара					Збір білка з гектара				
		$X_{\text{ср}}$, ц/га	b_1	$S^2 d$	X_{min}	X_{max}	$X_{\text{ср}}$, ц/га	b_1	$S^2 d$	X_{min}	X_{max}
Васильківська	15,72	3,36	0,87	1,11	0,78	5,28	6,04	0,86	2,24	1,55	9,47
Аркадія одеська	14,12	2,86	0,98	0,34	0,67	4,07	5,46	1,10	1,00	1,37	9,00
Альтаір	13,92	2,80	0,90	0,41	0,70	3,75	5,41	0,95	1,11	1,35	7,84
Степовичка 4	13,75	2,81	0,95	0,53	0,74	4,64	5,19	0,97	1,19	1,50	8,67
Маркус	13,70	2,96	1,29	1,11	0,38	5,01	5,06	1,15	2,88	0,73	8,09
Ятрань	13,63	2,95	1,22	0,14	0,52	4,75	5,04	1,18	0,21	0,95	8,74
Фаетон	13,45	2,75	0,89	0,32	0,74	3,87	5,07	0,89	0,94	1,47	7,15
Паркер	12,88	2,75	1,25	0,68	0,25	4,92	4,80	1,19	1,57	0,51	8,62
Чернівецька 8	12,72	2,72	1,12	0,21	0,65	4,09	4,66	1,08	0,37	1,17	7,65
Валюта	12,67	2,72	0,91	0,55	0,76	3,90	4,69	0,92	0,87	1,31	7,11
НІР ₀₅	3,22	0,75					1,19				
НІР ₀₁	4,27	0,99					1,58				

Якщо $b_1 < 1$, то такий сорт проявляє себе приблизно однаково у широкому спектрі умов зовнішнього середовища і за несприятливих умов перевищує за урожайністю більш пластичні сорти. При $b_1 > 1$ сорт інтенсивно реагує на зміну агроекологічного фону і в оптимальних умовах дає максимальний урожай. При цьому біохімічні показники такого сорту можуть бути досить посередніми (наприклад, у Ятрані), проте за рахунок високої урожайності збір білка та олії у нього може бути навіть більшим, ніж у високобілкових чи олійних, але менш продуктивних сортів.

Висновки

1. За роки випробування серед досліджених сортів не було виявлено істотного зв'язку між урожайністю та вмістом білка і олії в насінні, що гово-

рять про можливість селекції високобілкових та високоолійних генотипів сої з підвищеною урожайністю.

2. Не виявлено істотної залежності між погодними умовами та вмістом білка в насінні. Між вологозабезпеченістю та олійністю сої існує слабка позитивна залежність, проте серед генотипів з однаковими білковістю і урожайністю цей зв'язок є досить значним ($r=0,88$).

3. За умов південного Степу України найстабільніший високий урожай білка та олії забезпечують сорти Васильківська, Альтаїр, Аркадія одеська, Степовичка 4, Фаєтон. Сорти Ятрань, Маркус, Паркер інтенсивно реагують на покращення умов вирощування.

Література

1. Eberhart S.A., Russell W.A. Stability parameters for comparing varieties // Crop Sci. — 1966. — V.6. — № 1. — P. 36–40.

2. Клюка В.И., Волчков Ю.А., Хаитыров И.Б. Комплексная оценка пластичности сортов сои пищевого направления // Современные проблемы селекции и технологии возделывания сои. — Краснодар. — 2008. — С. 91–94.

3. Чирков Ю.И. Агрометеорология. — Л.: Гидрометеоиздат. — 1986. — 296 с.

4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). — М.: Агропромиздат. — 1985. — 351 с.

Резюме

Вивчено закономірності мінливості урожайності, білковості та олійності у 34 сортів сої в залежності від кліматичних умов року на півдні Степу України.

Изучены закономерности изменчивости урожайности, содержания белка и масла в семенах у 34 сортов сои в зависимости от климатических условий года на юге Степи Украины.

The variability of seed yield, protein and oil content of 34 soybean cultivars under the environment of the south Steppe of Ukraine have been studied.

СКОРИК В.В., СИМОНЕНКО Н.В., ДАВИДЮК І.М.

Носівська селекційно-дослідна станція,

с. Дослідне, Носівського р-ну, Чернігівської обл., e-mail: nosiv_sds@meta.ua

ГІБРИДОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ТРИГІБРИДНОГО СХРЕЩУВАННЯ ЖИТА ОЗИМОГО (*SECALE CEREALE* L.)

Аналітичною селекцією спрямовано створені донори домінантної короткостебловості [1–4, 11]. Виділена група рослин з константним проявом еректоїдної орієнтації листової пластинки (ЕОЛП) *erectum leafe* та відсутністю воскового покрыву на листках і стеблах (ВВП) *waxy cover* [5–9]. Приорітетним напрямком генетичного вдосконалення жита вважається селекція на короткостебловість з використанням домінантного гена короткостебловості *HNH1*, то гени ЕОЛП і ВВП в процесі селекції були синтетично об'єднані в одному донорі –*HNH1elelwcwc* (P_1). Проведено контрольоване схрещування з константним донором альтернативних ознак *hlhlELElWcWc*, — високе стебло, звисаюча листова пластинка, густий восковий покрив (P_2).

Матеріали і методи

Для проведення гібридологічного аналізу насіння рослин F_1 (P_1/P_2) і F_1 (P_2/P_1) гібридів поділено на три частини і висіяно за однаковою методикою в трьох екологічних точках України — на провокаційно-інфекційному фоні Носівської селекційно-дослідної станції (НСДС), на Верхняцькій селекційно-дослідній станції (ВСДС) і Волинському інституті АПВ (ВІАПВ). В F_2 проведено гібридологічний аналіз усіх рослин реципрокних схрещувань з альтернативними ознаками в батьківських форм.

Результати і обговорення

Проведено генетичний аналіз спадкування трьох пар генів жита, по кожному з яких спостерігалось повне домінування одного алеля над іншим. Отримані в F_1 тригібриди виявилися одноманітними за фенотипом — Корткостеблї, з звичайною звисаючою листовою пластинкою, з густим восковим покривом на листках і стеблах. Згідно закону випадкового комбінювання, при утворенні гамет у F_1 , розщеплення в кожній з трьох пар генів відбувається незалежно від розщеплення в інших парах генів. При вільному переzapиленні між рослинами F_1/F_1 на просторово ізольованій ділянці при випадковому сполученні восьми типів яйцеклітин з вісьмома типами спермїїв у F_2 отримано 64 комбінації зигот. За фенотипом рослин F_2 поділялися на вісім різноманітних груп у співвідношенні 2032: 688: 670: 677: 221: 236: 227: 76, у прямих і 1910: 640: 627: 645: 214: 200: 214: 71 у зворотніх схрещуваннях, що відповідало співвідношенню — 27 H1H1E1E1WcWc: 9 H1H1E1ElwCwc: 9 H1H1e1e1Wcwc: 9 h1h1E1e1wCwc: 3 H1h1e1e1wCwc: 3 h1h1E1e1wCwc: 3 h1h1e1e1Wcwc: 1 h1h1e1e1wCwc. Результати отримані за суюмо рослин F_2 на НСДС, ВСДС і ВІАПВ. Окремо на кожному місці проведення досліджень результати виявилися адекватними (табл. 1). Неістотна різниця між фактичними і очікуваними частотами генотипів вказує на відповідність між розрахунковими і фактичними результатами. В найбільшій чисельності (2032 прямих і 1910 зворотніх F_2) представлені рослини з трьома домінантними ознаками — коротке стебло, звисаюча листова пластинка, восковий покрив. Рослини з трьома рецесивними ознаками — високостеблові, з ЕОЛП і ВВП (76 прямих і 71 зворотніх F_2) — утворювалося значно рідкісніше. Вони становили близько 1/27 від чисельності рослин з трьома домінантними ознаками. У решти шести фенотипових класах F_2 ознаки присутні в різних сполученнях, тобто ці шість класів виявилися рекомбінантними. Утворення рекомбінацій — важлива особливість складних схрещувань, тобто отримання таких.

Сполучень генів, яких не було в батьківських форм. Фенотипово це проявляється утворення у нащадків нових ознак. Неістотна відмінність між фактичними і очікуваними частотами вказує на відповідність розрахункових і фактичних даних. Критерій χ^2 у трьох пунктах проведення досліджень відповідав рівню значимості при $P < 0,001$. Отримані в експерименті результати відповідають три гібридній схемі розщеплення — 27:9:9:9:3:3:3:1.

Таблиця 1

Аналіз розщеплення жита озимого по ознаках короткостебловості (НІ), ЕОЛІІ (el) і ВВІІ (wc)

Фенотипові класи	Символи генів	Місце проведення дослід/шт. рослин						Загальна сума	
		Носівська СДС		Верхняцька СДС		Волинський ІАПВ			
		прямі	зворотні	прямі	зворотні	прямі	зворотні	прямі	зворотні
Короткі Звисаючі Воскові	HlHl ElEl WcWc	540	444	591	683	901	783	2032	1910
Короткі Звисаючі Безвоскові	Hlhl ElEl wcwc	179	152	210	229	299	259	688	640
Короткі Еректоїдні Воскові	HlHl el el Wcwc	182	144	197	224	291	259	670	627
Високі Звисаючі Воскові	hlhl ElEl Wcwc	176	146	204	237	297	262	677	645
Короткі Еректоїдні Безвоскові	Hlhl el el wcwc	60	51	64	77	97	86	221	214
Високі Звисаючі Безвоскові	hlhl ElEl wcwc	64	48	65	69	107	83	236	200
Високі Еректоїдні Воскові	hlhl el el Wcwc	57	49	66	82	104	83	227	214
Високі Еректоїдні Безвоскові	hlhl el el wcwc	22	14	23	24	31	33	76	71
Сума		1280	1048	1420	1625	2127	1848	4827	4521
χ^2		0,533	1,513	0,881	1,573	1,105	0,545		

Розщеплення переконливо свідчить, що вихідні батьківські зразки різняться за трьома ознаками [10]. Кожна з трьох ознак контролюється лише одним геном, для яких характерне домінантне спадкування. Тригетерозиготність HlhlElElWcwc, у нашому випадку обумовлена трьома парами алелів, які містяться у трьох парах хромосом. Незалежне сполучення хромосом з різних пар призводить до того, що у три гетерозигот утворюється вісім типів гамет [12–14]. Гамети гібридів першого покоління виписали і розмістили по вертикалі і горизонталі решітки Пеннета і вийшли на формулу розщеплення для три гібридного схрещування, а саме:

$$1\text{HlHlElElWcWc}+1\text{HlHlelelWcWc}+1\text{hlhlElElWcWc}+1\text{hlhlelelWcWc}+2\text{HlHlElElWcWc}+2\text{HlHlelelWcWc}+2\text{HlhlElElWcWc}+2\text{hlhlelelWcWc}$$

+2HlHlElElWcwc+2HlHlElElWcwc+4HlHlElElWcWc+4HlHlElElWcwc+
 +4HlHlElElWcwc+8HlHlElElWcwc+4HlHlElElWcwc+4HlHlElElWcwc+
 +Г4HlHlElElwccwc+2HlHlElElWcwc+ 2HlHlElElWcwc+2HlHlElElwccwc+
 +2HlHlElElwccwc+2HlHlElElElwccwc+ 2HlHlElElwccwc+1HlHlElElwccwc+
 1HlHlElElwccwc+1HlHlElElwccwc+1HlHlElElwccwc,

Тобто ті ж класи і в тих же співвідношеннях, як у табл. 1. Випадково сполучення гамет три гетерозигот призводять до появи в F_2 64 класів нащадків. Розподіл цих класів по фенотипу в нашому досліді набуло наступного вигляду:

- 27 короткостеблі, звисаючі, воскові — HlElWc;
- 9 короткостеблі, звисаючі, без воскового покриву — HlElwc;
- 9 короткостеблі, еректоїдні, воскові — HlElWc;
- 9 високорослі, звисаючі, воскові — hElWc;
- 3 короткостеблі, еректоїдні, без воскового покриву — HlElwc;
- 3 високорослі, звисаючі, без воскового покриву — hElWc;
- 3 високорослі, еректоїдні, воскові — hElWc;
- 1 високорослі, еректоїдні, без воскового покриву — hElwc.

При використанні три гібридних схрещувань можливі генетичні утруднення пов'язані з зчепленим спадкуванням ознак. Вони можуть виникати коли ознака зчеплена з небажаними генами або блоком генів. Селекція потрібної ознаки потягне за собою добір у небажаному для селекціонера напрямку, інтенсивність якого буде пропорційна ступеню зчеплення. Якщо ефект небажаного гена добре фенотипові помітний, зчеплення можливо розірвати інбридингом, оскільки в цьому випадку вірогідніше відбудеться кросинговер, який розведе небажане зчеплення як у чоловічих так і в жіночих гаметах. У випадках, коли прямий добір на розрив зчеплення неможливий, більш ефективним буде проведення насичуючого схрещування.

Література

1. Скорик В. В. Генетико-статистична характеристика нових різновисоких донорів короткостеблості озимого жита // В. В. Скорик, Н. В. Скорик. — Цитологія і генетика. — 2003. — Т. 37. — С. 9–20.
2. Skoryk V. V. Plant-breeding work with winter rye on Nosivska plant-breeding station // International Symposium on Rye Breeding & Genetics / Minsk. Belarus. — 29 June – 2 July. — 2010. — P. 60.
3. Bunyak O. I., Skoryk V. V. Evaluation of short-straved winter rye hybrids controlled by dominant gen Hl of new donors // International Symposium on Rye Breeding & Genetics / Minsk. Belarus. — 29 June – 2 July. — 2010. — P. 54.
4. Скорик В. В. Успадкування кількісних ознак нових донорів домінантної короткостеблості жита озимого (*Secale cereale* L.) // В. В. Скорик, О. І. Буняк / Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. — 1 (7). — 2008. — С. 29–35.
5. Скорик В. В. Эффективность отбора по крупности зерна у озимой ржи // В. В. Скорик / Селекция и семеноводство. — Вып. 31. — К., Урожай. — 1975. С. 8–15.
6. Лихвар Д. Ф. Переваги крупного насіння жита // Д. Ф. Лихвар, В. В. Скорик / Сільськогосподарська інформація. — 9 (38). — К., 1972. — С. 20–21.

7. Скорик В. В. Селекція жита (*Secale cereale* L.) на підвищену фотосинтетичну активність листя // В. В. Скорик, В. В. Скорик, Н. В. Симоненко, О. П. Скорик / Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. — 1 (9). — 2009. — С. 19–25.

8. Symonenko N. Selection of rye (*Secale cereale* L.) on increased photosynthetic activities of leaves // N. Symonenko, V. Skoryk, V. Skoryk / International Symposium on Rye Breeding & Genetics. — Minsk, Belarus. — 29 June – 2 July. — 2010. — P. 58.

9. Скорик В. В. Генетико-статистичний аналіз короткостеблових еректоїдних зразків жита озимого (*Secale cereale* L.) // В. В. Скорик, Н. В. Симоненко, О. О. Бутунець, Т. А. Ковальчук / Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. — 2 (10). — 2009. — С. 11–18.

10. Скорик В. В. Спадкування морфологічних і кількісних ознак F_1 від схрещування донорів з відмінними селекційними ознаками жита озимого (*Secale cereale* L.) // В. В. Скорик, І. М. Ляшко, С. С. Неїжапа, І. М. Давидюк / Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. — 2 (10). — 2009. — С. 27–35.

11. Яшовский И. В. Теоретические основы и практическое использование насыщающих скрещиваний в селекции растений // И. В. Яшовский / Использование насыщающих скрещиваний и самонесовместимости в селекции сельскохозяйственных растений. — Наукова думка. — 1975. — С. 4–15.

12. Гершензон С. М. Основы современной генетики // С. М. Гершензон / Наукова думка. — К., 1983. — С. 51.

13. Дубинин Н. П. Общая генетика // Н. П. Дубинин. — Наука. — М.: 1972. — С. 72.

14. Ли Ч. Введение в популяционную генетику // Ч. Ли. — Мир. — М.: 1978. — С. 55

Резюме

Вперше у жита озимого проведено аналіз достовірної вибірки рослин F_2 тригбридного схрещування у трьох екологічних точках України. Отримано класичне менделівське розщеплення, яке підтвердило незалежне розщеплення по трьох парах хромосом. Умови середовища не вплинули на характер розщеплення незалежних генів. Ознаки домінантної короткостебловості, рецесивних еректоїдності листа і відсутності воскового покриву пропонується використовувати як фенотипові маркерні ознаки в трансгресивній селекції і програмах на оволодіння ефектом гетерозису.

Впервые у ржи проведен анализ достоверной выборки растений F_2 тригбридного скрещивания в трех экологических точках Украины. Получено классическое менделевское расщепление, которое подтвердило независимое расщепление по трем парам хромосом. Условия среды не повлияли на характер расщепления независимых генов. Признаки доминантной короткостебельности, рецессивных эректоидности листьев и отсутствия воскового покрова предлагается использовать как фенотипические маркерные признаки в трансгрессивной селекции и программах на овладение эффектом гетерозиса.

For the first time in rye authentic sample analyzed F_2 plants of Three-Hybrid Crossing in three environmental points of Ukraine. Received a classical mendelian splitting, which confirmed the splitting of the three independent pairs of chromosomes. The environmental conditions did not affect the nature of the splitting of independent genes. Signs dominant short-stem, recessive erectoid leaves and the lack of wax cover is proposed to use as a phenotypic marker signs in the selection of transgressive and programs to capture the effect of heterosis.

**ГЕНОТИПНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕТВОРЕНЬ
У ВІОЛАКСАНТИНОВОМУ ЦИКЛІ ТА АКТИВНОСТІ
АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У КОНТРАСТНИХ
ЗА ЗЕРНОВОЮ ПРОДУКТИВНІСТЮ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ**

Процес фотосинтезу у рослин полягає у перетворенні енергії сонячного світла у хімічну енергію в хлоропластах листків. Незважаючи на те, що фотосинтез — це світлозалежний процес, зв'язок між інтенсивністю фотосинтезу та рівнем освітлення має нелінійний характер [1]. Майже все поглинуте світло використовується на фотосинтетичні реакції тільки за досить низької інтенсивності освітлення. У C_3 -рослин за певних умов на яскравому сонячному світлі біля третини поглинутої сонячної енергії може використовуватися на асиміляцію вуглецю, а решта — розсіюватися у вигляді тепла [2]. Тобто за умов яскравого освітлення у тилакоїдних мембранах хлоропластів з'являється надлишок поглинутого світла. У результаті взаємодії збуджених молекул хлорофілу з киснем може утворитися синглетний кисень, супероксидні радикали та пероксидні сполуки, що пошкоджують фотосинтетичний апарат, і зокрема, структури комплексів реакційних центрів фотосистеми II (ФСII), які є найбільш вразливою ланкою у ланцюгу електронного транспорту хлоропластів [3].

В ході еволюції рослини сформували різні захисні механізми для запобігання фотоокиснювальному пошкодженню фотосинтетичного апарату. Одним з таких механізмів є термальне розсіяння надлишку поглинутої енергії в світлозбиральних комплексах ФС II [4]. Відомо, що одним з показників величини теплової дисипації є ступінь деєпоксидації (ДЕ) пігментів віолаксантинового циклу (ВЦ), фотопротекторна роль якого щодо тилакоїдних мембран хлоропластів показана для багатьох культур та за дії різних чинників. Важливу роль у захисті фотосинтетичного апарату від пошкоджень активними формами кисню (АФК) також відіграють і антиоксидантні ферменти хлоропластів: супероксиддисмутаза (СОД) та аскорбатпероксидаза (АПО) [5]. СОД каталізує перетворення супероксидних радикалів до кисню та пероксиду водню, а АПО бере участь у видаленні пероксиду водню.

У сучасній літературі багато уваги приділяють питанню збільшення продуктивності пшениці, а також її стійкості до дії стресових чинників. Одним з аспектів цієї проблеми є вивчення механізмів захисту фотосинтетичного апарату. У зв'язку з цим, метою даної роботи було вивчення особливостей перетворень пігментів віолаксантинового циклу та функціонування антиоксидантних ферментів хлоропластів контрастних за зерною продуктивністю сортів озимої пшениці.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження слугували 2 сорти озимої пшениці: менш продуктивний Миронівська 808 та високопродуктивний — Фаворитка. Їх зернова продуктивність (за умов тривалої посухи протягом періоду наливу зерна, що спостерігалася під час проведення експерименту), відповідно, складала $34,4 \pm 1,1$ та $41,5 \pm 0,4$ ц/га. Рослини вирощували в умовах дрібноділянкового досліду на фоні мінерального живлення 120 кг (за діючою речовиною) азоту та по 110 кг фосфору і калію у перерахунку на 1 га. Площа кожної ділянки складала $1,6 \text{ м}^2$. Відбір зразків — прапорцевих листків — здійснювали у фазі цвітіння, молочної та молочно-воскової стиглості.

Визначення вмісту ксантофілів проводили на рідинному хроматографі високого тиску з використанням суміші ацетонітрилу, метанолу та дистильованої води у співвідношенні 70: 9,6: 3, відповідно. Їх розділення здійснювали на колонці $3 \times 150 \text{ мм}$, наповненої Separon TM SG XC18 з розміром частинок 5 мкм, при довжині хвилі 436 нм. Екстрагування пігментів проводили 100 % ацетоном на холоді. Концентрацію ксантофілів, мкг/дм^2 , розраховували згідно [6]. Величину деєпоксидації розраховували за формулою: $DE = (Z + 0,5A) / (V + A + Z)$ — де V- вміст віолаксантину, A — антераксантину та Z — зеаксантину.

Активність ферментів визначали в суспензії ізольованих хлоропластів. Хлоропласти виділяли механічним способом за температури $0-4^\circ \text{C}$. Середню наважку (2 г) прапорцевих листків пшениці гомогенізували в 7-кратному об'ємі буферного розчину такого складу: 0,33 М сорбітол, 5 мМ MgCl_2 , 0,1 % БСА, 4 мМ аскорбінова кислота та 50 мМ трис- HCl (pH 7,5). Гомогенат фільтрували через 2 шари капронової тканини та центрифугували на центрифугі K-24 D при 80 г та температурі $0-4^\circ \text{C}$ протягом 5 хв для осадження важких часток. Надосадову рідину зливали в інші центрифужні пробірки (попередньо охолоджені) та центрифугували при 2000 г 10 хв для отримання фракції хлоропластів. Осад хлоропластів ресуспендували в ізотонічному середовищі з 4 мМ аскорбінової кислоти, 50 мМ трис- HCl (pH 7,5) об'ємом 2 мл і в подальшому використовували для визначення активності СОД та АПО. Активність СОД вимірювали за допомогою нітротетразолієвого блакитного при довжині хвилі 560 нм [7]. Активність АПО вимірювали в ультрафіолетовій області спектра при 290 нм за методом Чена й Асади [8]. Вміст хлорофілу в суспензії хлоропластів визначали за методом Арнона [9].

Результати експериментів статистично оброблено з використанням t-критерію Стюдента на 95% рівні значущості за допомогою програм Microsoft Excel.

Результати та обговорення

Активність антиоксидантних ферментів СОД та АПО у хлоропластах прапорцевих листків сортів Фаворитка та Миронівська 808 змінювалася протягом періоду наливу зерна (рис. 1). У фазу цвітіння активність хлоро-

пластної СОД цих сортів була найменшою і коливалася у межах 330–350 відносних одиниць на міліграм хлорофілу. У наступну фазу — молочної стиглості — вона підвищувалась, причому сильніше у Фаворитки — на 30%, а у Миронівської 808 лише на 18%. В подальшому в обох сортів відбувалося зниження активності СОД, менше у сорту Фаворитка. Динаміка активності АПО хлоропластів була аналогічною: у фазу молочної стиглості, в порівнянні з фазою цвітіння, вона зростала у Фаворитки — на 22%, а у Миронівської 808 — на 13%. А в молочно-воскову активність АПО у обох сортів була меншою, ніж у попередню фазу, на 6%.

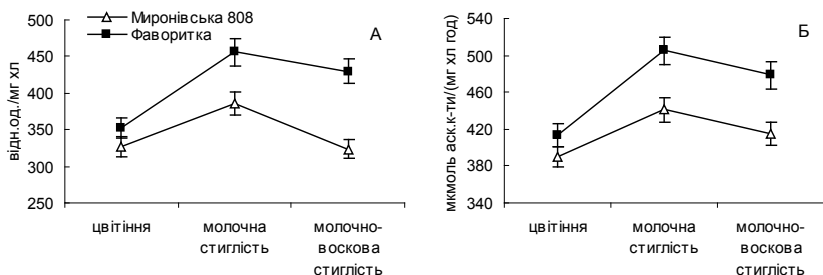


Рис. 1. Активність супероксиддисмутази (А) та аскорбатпероксидази (Б) хлоропластів прапорцевих листків озимої пшениці різної продуктивності

Протягом фаз молочної та молочно-воскової стиглості відбувається поступове старіння листків і зменшення швидкості асиміляції CO_2 внаслідок реутилізації азотовмісних сполук у зерно, що наливається. Наслідком цього є зменшення споживання НАДФ·Н у циклі Кальвіна, і це призводить до надвідновлення ЕТЛ та утворення в хлоропластах АФК, які ушкоджують фотосинтетичні мембрани. Тому підвищення активності хлоропластної СОД і АПО у фазу молочної та молочно-воскової стиглості, в порівнянні з фазою цвітіння, можна розглядати як захисну реакцію фотосинтетичного апарату на окиснювальний стрес. У рослин високопродуктивного сорту Фаворитка зростання активності антиоксидантних ферментів хлоропластів прапорцевого листка в період наливу зерна було сильнішим, ніж у менш продуктивного Миронівська 808.

Суттєві відмінності між сортами за активністю антиоксидантних ферментів в фазу молочної та молочно-воскової стиглості можуть свідчити про зростання ймовірності пошкодження фотосинтетичного апарату у цей період. В першу з цих фаз нами було досліджено зміни показника ДЕ ксантофілів віоласантинового циклу на 10-разове зменшення інтенсивності освітлення — з $1700 \text{ мкмЕ/м}^2 \text{ с}$ (природне освітлення) до 170 (створене шляхом покриття рослин кількома шарами фільтрувального паперу) протягом 5 та 15 хвилин. Як можна бачити з даних рис. 2, за умов яскравого освітлення у обох сортів величина ДЕ була близькою і складала 0,33–0,34. Через 5 хвилин після різкого зниження інтенсивності освітлення — у сорту Фа-

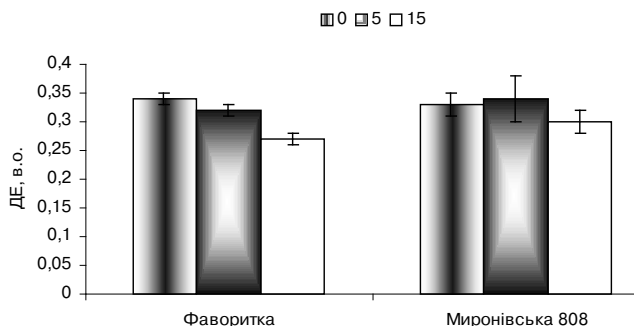


Рис. 2. Величина деєпоксидатії пулу пігментів ВЦ, відносні одиниці, у прапорцевих листках 2-х сортів озимої пшениці в умовах яскравого освітлення (0) та затінення рослини протягом 5 та 15 хвилин

воритка вона недостовірно зменшилася у порівнянні з вихідним значенням (до $0,32 \pm 0,01$), а у сорту Миронівська 808 несуттєво зросла (до $0,34 \pm 0,04$). А через 15 хвилин ДЕ ксантофілів ВЦ першого сорту достовірно зменшилася (на 20%), у порівнянні з його значенням в умовах яскравого освітлення, у другого сорту за цей проміжок часу достовірних змін не було, хоча тенденція до зменшення також спостерігалася.

Отримані нами дані про більш швидке зменшення величини деєпоксидатії ксантофілів у відповідь на зниження рівня освітлення у сорту Фаворитка, в порівнянні з Миронівською 808, свідчать на користь припущення про те, що для забезпечення високої фотосинтетичної ефективності рослин важливим є не тільки величина деєпоксидатії, але і швидкість перетворень віолаксантину в зеаксантин та навпаки [4]. На підтвердження цієї гіпотези вказують і літературні дані. Зокрема, показано, що 2 супервроджайних гібрида рису характеризувалися не тільки більшою, ніж у традиційного сорту, швидкістю перетворення віолаксантину в зеаксантин за умов фотоінгібування, але і більшою швидкістю та рівнем відновлення після нього [10].

Відомо, що поглинута сонячна енергія може бути використана як на фотохімічні, так і на нефотохімічні процеси в тилакоїдних мембранах хлоропластів. Тому мінімізація часу, впродовж якого здійснюються непродуктивні витрати енергії, сприяє покращенню ефективності використання енергії на фотохімічні процеси.

Таким чином, вища активність хлоропластних СОД і АПО та більша швидкість перетворень ксантофілів у ВЦ забезпечують кращий захист і ефективність функціонування фотосинтетичного апарату за умов змінного освітлення у високопродуктивного сорту Фаворитка, в порівнянні з Миронівською 808. Це відобразилося у більш повній реалізації його зернового потенціалу: зернова продуктивність першого з них перевищувала на 20 % її величину у другого.

Література

1. Стасик О. О., Кіп'ізі Д. А. Регуляторні зв'язки і лімітувальні чинники в системі фотосинтез — продукційний процес та перспективи їх оптимізації // Физиология и биохимия культурных растений. — 2011. — 43, № 3. — С. 226–238.
2. Horton P., Ruban A. V., Walters R. G. Regulation of light harvesting in green plants // Annu. Rev. Plant Physiol. Biol. — 1996. — 47. — P. 655–684.
3. Roleda M. Y. Photosynthetic response of Arctic kelp zoospores exposed to radiation and thermal stress // Photochemical and Photobiological Sciences. — 2009. — 8. — P. 1302–1312.
4. Murchie E. H., Hubbart S., Peng S., Horton P. Improving radiation-use efficiency: the acclimation of photosynthesis to high irradiance in rice leaves. — 2002. — 130, N4. — P. 118–126.
5. Asada K. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions // Plant Physiol. — 2006. — 141, N 2. — P. 391–396.
6. Прядкина Г. А., Лихолат Д. А. Определение ксантофиллов методом жидкостной хроматографии в изократическом режиме // Физиология и биохимия культурных растений. — 2006. — 38, № 1. — С. 75–82.
7. Giannopolitis C. N., Ries S. K. Superoxide dismutase. Occurrence in higher plants // Plant Physiol. — 1977. — 59, N 2. — P. 309–314.
8. Chen G.-X., Asada K. Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their and molecular properties // Plant Cell Physiol. — 1989. — 30, N 7. — P. 987–998.
9. Arnon D. I. Copper enzyme in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* // Plant. Physiol. — 1949. — 24, N 1. — P. 1–15.
10. Wang G., Zhang Q. D., Zhu X. G. et al. PS II photochemistry and xanthophylls cycle in two super-high-yield rice hybrids Liagyoupeijiu and Hua-an 3 during photoinhibition and subsequent restoration // Acta Botanica Sinica. — 2002. — 44. — P. 1297–1300.

Резюме

Вивчали динаміку СОД та АПО і швидкість реакції епоксидзації ксантофілів віолаксантинового циклу в прапорцевих листках двох контрастних за продуктивністю сортів озимої пшениці в період наливу зерна. Показано, що кращий захист і ефективність функціонування фотосинтетичного апарату у високопродуктивного сорту Фаворитка були забезпечені більшою активністю антиоксидантних ферментів і швидкістю перетворень у ВЦ, що сприяло підвищенню його зернової продуктивності.

Изучали динамику СОД и АПО, а также скорость реакции эпоксидации ксантофиллов виолаксантинового цикла во флаговых листьях двух контрастных по продуктивности сортов озимой пшеницы в период налива зерна. Показано, что лучшая защита и эффективность функционирования фотосинтетического аппарата у высокопродуктивного сорта Фаворитка были обусловлены большей активностью антиоксидантных ферментов и скоростью преобразований в ВЦ, что способствовало повышению его зерновой продуктивности.

The dynamics of SOD and APX and the epoxidation rate of xanthophylls cycle in flag leaves of two winter wheat cultivars different in grain productivity were studied during grain filling. It was shown that the best photoprotection and efficiency of functioning of the photosynthetic apparatus in high-yielding variety Favoritka was provided by greater activity of antioxidant enzymes and the conversion rate in the xanthophylls cycle that supports to increase in its grain productivity.

ТИМЧУК С.М.¹, МАРТИНЮК М.М.¹, ПОЗДНЯКОВ В.В.¹, ТИМЧУК В.М.¹,
ХАРЧЕНКО Ю.В.², ХАРЧЕНКО Л.Я.²

¹Інститут рослинництва ім. В.Я.Юр'єва НААН

Україна, 61128, Харків, пр. Московський 142, e-mail: yuriev1908@gmail.com

²Устимівська дослідна станція рослинництва

Україна, 39074, Полтавська область, Глобинський район, с. Устимівка

ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ОСНОВНИХ ОЗНАК ЯКОСТІ ГРАНУЛЯРНОГО КРОХМАЛЮ У ВИСОКОАМІЛОЗНОЇ КУКУРУДЗИ

Кукурудзяний крохмаль є одним з провідних видів рослинної сировини і широко використовується в харчовій, фармацевтичній і технічних галузях промисловості. Однак якість крохмалю кукурудзи традиційного типу, як правило, не задовольняє специфічних вимог промислових виробництв і потребує поліпшення [1].

На даний час у кукурудзи ідентифіковано серію моногенних мутацій, які викликають утворення крохмалів з високими частками амілози або амілопектину [2] і встановлено, що цей ефект супроводжується суттєвими змінами морфології крохмальних гранул і технологічних властивостей крохмалю [3, 4]. З іншого боку відомо, що основні ознаки якості гранулярного крохмалю можуть контролюватися і полігенними комплексами [5].

Серед відомих крохмалів — модифікуючих мутацій кукурудзи на особливу увагу заслуговує мутація *ae* (*amylose extender*), яка викликає значне зниження активності крохмаль — розгалужуючого ферменту і приводить до утворення крохмалів з високою часткою амілози [6]. Крохмалі такого типу вирізняються підвищеною стійкістю до амілолізу, формують міцні пружні гелі з добрими структурно — механічними властивостями і, тому, мають значні перспективи багатоцільового промислового застосування [7, 8].

Ефективність виробництва високоамілозних крохмалів залежить, насамперед, від якості рослинної сировини і гібриди кукурудзи на основі мутації *ae* повинні поєднувати високий вміст амілози в крохмалі з достатньо високим вмістом крохмалю і достатньо високими розмірами крохмальних гранул. Тому метою наших досліджень був генетичний аналіз цих ознак якості гранулярного крохмалю у носіїв мутації *ae*.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень послуговували 6 неспоріднених за походженням інбредних ліній кукурудзи на основі мутації *ae* з найкращою сукупністю основних господарсько-цінних ознак. Отримання простих гібридів для проведення генетичного аналізу проводили за діалельною схемою схрещувань другого методу Гріфінга. Контролями в експерименті послуговували 6 ліній і 15 гібридів кукурудзи звичайного типу. Варіанти експериментального комплексу вирощували в 2009 році в двох екологічних зонах —

Східному та Південному Лісостепу України і для досліджень використовували матеріал виключно від контрольованого запилення.

Для визначення розмірів крохмальних гранул використовувався цифровий аналіз їх мікрофотографій, отриманих на мікроскопі «Биолам-15» з комп'ютерною цифровою відеокамерою DCM-300. Вміст крохмалю в зерні визначали поляриметричним методом Еверса [9], а вміст амілози в крохмалі — колориметричним методом В.О. Juliano [10]. Отримані результати піддавали статистичній обробці методом діалельного аналізу з використанням алгоритму Хеймана [11].

Результати та обговорення

Отримані результати показали, що за середнім діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні лінії та гібриди — носії мутації *ae* суттєво поступаються лініям та гібридам традиційного типу, а за вмістом амілози в крохмалі значно переважають їх. Гібриди обох типів відрізнялися від відповідних інбредних ліній більшим середнім діаметром крохмальних гранул і більш високим середнім вмістом крохмалю в зерні, тоді як відмінності за середнім вмістом амілози в крохмалі між лініями і гібридами кукурудзи обох типів знаходилися на рівні помилки експерименту. Встановлено також, що і лінії і гібриди обох типів досить відмінні між собою за всіма проаналізованими ознаками якості гранулярного крохмалю (табл. 1, 2)

Результати дисперсійного аналізу свідчать про наявність суттєвих відмінностей між різними лініями — носіями мутації *ae* за ефектами комбіна-

Таблиця 1

Мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у лінії кукурудзи звичайного типу і ліній — носіїв мутації *ae* (середнє за результатами випробувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Типи ліній	Діаметр крохмальних гранул, мкм		Вміст крохмалю в зерні, % до а. с.р.		Вміст амілози в крохмалі, %	
	мін.-макс.	середній	мін.-макс.	середній	мін.-макс.	середній
Звичайні	9,6–10,8	10,1	63,9–66,3	64,7	26,3–27,2	26,8
Носії мутації <i>ae</i>	6,3–7,2	6,8	54,4–56,4	55,2	59,6–62,9	61,2
НІР _{0,95}	0,3	0,5	0,8	0,9	0,5	1,0

Таблиця 2

Мінливість основних ознак якості гранулярного крохмалю у гібридів кукурудзи звичайного типу і гібридів — носіїв мутації *ae* (середнє за результатами випробувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Типи ліній	Діаметр крохмальних гранул, мкм		Вміст крохмалю в зерні, % до а. с.р.		Вміст амілози в крохмалі, %	
	мін.-макс.	середній	мін.-макс.	середній	мін.-макс.	середній
Звичайні	9,8–11,3	10,4	68,5–72,3	70,4	26,1–27,0	26,6
Носії мутації <i>ae</i>	7,0–7,6	7,4	58,2–60,9	59,8	60,0–62,2	61,1
НІР _{0,95}	0,3	0,2	0,8	0,7	0,4	0,3

ційної здатності щодо діаметру крохмальних гранул, а також вмісту крохмалю в зерні і амілози в крохмалі. При цьому переважний вклад до дисперсії за діаметром крохмальних гранул і вмістом амілози в крохмалі вносили ефекти загальної (ЗКЗ), а за вмістом крохмалю в зерні — ефекти специфічної (СКЗ) комбінаційної здатності (табл. 3).

Таблиця 3

Результати дисперсійного аналізу комбінаційної здатності ліній кукурудзи — носіїв мутації *ae* за основними ознаками якості гранулярного крохмалю, розрахунковий критерій F (середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Ознаки	Ефекти ЗКЗ	Ефекти СКЗ
Діаметр крохмальних гранул	27,8	19,3
Вміст крохмалю в зерні	26,5	98,8
Вміст амілози в крохмалі	71,8	8,2
F _{0,95 табл.}	2,7	2,2

Найбільш високими ефектами ЗКЗ за діаметром крохмальних гранул і вмістом крохмалю в зерні вирізнялися лінії АЕ-466 та АЕ-392, а за вмістом амілози в крохмалі -АЕ-466, АЕ-746 та АЕ-464.

Всі варіанси СКЗ за діаметром крохмальних гранул в проаналізованому експериментальному комплексі були низькими і маловідмінними. Навпаки, відмінності різних ліній за варіантами СКЗ щодо вмісту крохмалю в зерні і амілози в крохмалі було виражено у значно більшому ступені. Найбільші варіанси СКЗ за вмістом крохмалю в зерні зареєстровано у ліній АЕ-466, АЕ-464 та АЕ-392, а за вмістом амілози в крохмалі — у ліній АЕ-464 та АЕ-466.

Окремим лініям було властивим поєднання високої комбінаційної здатності за кількома ознаками якості гранулярного крохмалю і серед них найбільш цінною слід визнати лінію АЕ-466. Ця лінія вирізнялася найбільшими ефектами ЗКЗ за всіма проаналізованими ознаками і найбільшими варіансами СКЗ за вмістом крохмалю в зерні і амілози в крохмалі (табл. 4).

Загальна оцінка генетичних компонентів дисперсії свідчить, що системи генетичної регуляції діаметру крохмальних гранул і вмісту крохмалю в зерні у носіїв мутації *ae* наближаються до аддитивно — домінантної моделі Хеймана, тоді як система генетичної регуляції вмісту амілози в крохмалі ухилиється від неї.

Отримані результати показали також, що успадкування діаметру крохмальних гранул і вмісту крохмалю в зерні здійснюється за типом позитивного наддомінування, а успадкування вмісту амілози в крохмалі — за типом неповного домінування з переважним вкладом до дисперсії аддитивних ефектів.

Зареєстровану в дослідях кількісну мінливість ліній та гібридів — носіїв мутації *ae* за основними ознаками якості гранулярного крохмалю можна пояснити двома вірогідними причинами. Першою з них є ефекти по-

Таблиця 4

Комбінаційна здатність ліній кукурудзи — носіїв мутації *ae* і генетичні компоненти дисперсії за основними ознаками якості гранулярного крохмалю (середнє за результатами випробувань ліній та гібридів діалельної схеми схрещувань в двох екологічних зонах, 2009 р.)

Лінії	Діаметр крохмальних гранул, мкм		Вміст крохмалю в зерні, % до а. с.р.		Вміст амілози в крохмалі, %	
	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ	ефекти ЗКЗ	варіанси СКЗ
АЕ-464	-0,07	0,03	-0,36	2,27	0,38	0,52
АЕ-801	-0,03	0,02	-0,30	1,42	-0,41	0,08
АЕ-466	0,15	0,03	0,51	2,65	0,58	0,50
АЕ-800	-0,06	0,02	-0,23	1,70	-0,36	0,03
АЕ-392	0,18	0,02	0,67	2,11	-0,67	0,00
АЕ-746	-0,16	0,05	-0,30	1,73	0,49	-0,02
НІР _{0,95}	0,08		0,26		0,19	
Н1/D	2,50		39,29		0,59	
a	-0,03		-2,66		0,55	
b	0,85		0,72		0,23	

лігнених комплексів, які можуть викликати власну дисперсію за цими ознаками і модифікувати ефект мутації *ae* [5], а другою — наявність множинного алелізму в цьому локусі [12].

Висновки

Інбредні лінії кукурудзи на основі мутації *ae* суттєво відмінні між собою за ефектами комбінаційної здатності щодо основних ознак якості гранулярного крохмалю. Основним типом успадкування діаметру крохмальних гранул і вмісту крохмалю в зерні є позитивне наддомінування, а вмісту амілози в крохмалі — неповне домінування з переважним вкладом до дисперсії аддитивних ефектів. Використання ефектів взаємодій ген: генотип може розглядатися як результативний метод поліпшення якості гранулярного крохмалю у високоамілозної кукурудзи.

Література

1. *Starch chemistry and technology*, 3rd ed./J. Be Miller, R. Whistler Eds. — Amsterdam — Boston — Heidelberg — London — New York — Oxford — Paris — San Diego — San Francisco — Singapore: Acad. Press, Elsevier Publ., 2009—900 p.
2. *Coe E., Polacco M.* Maize gene list and working maps // *Maize Genet. Newslett.* — 1994. — V. 68. — P. 156—191.
3. *Wang Y.J., White P., Pollak L.* Thermal and gelling properties of maize mutants from the Oh-43 inbred line // *Cereal Chem.* — 1992. — V. 69. — P. 328—334.
4. *Wang Y.J., White P., Pollak L., Jane J.-L.* Characterization of starch structures of 17 maize endosperm mutant genotypes with Oh-43 inbred line background // *Cereal Chem.* — 1993. — V. 70. — P. 171—179.
5. *Sene M., Causse M., Damerval C. et al.* Quantitative trait loci affecting amylose, amylopectin and starch content in maize recombinant inbred lines // *Plant Physiol. Biochem.* — 2000. — V. 38. — P. 459—472.

6. Nelson O. E., Pan D. Starch synthesis in maize endosperm // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* — 1995. — V. 46. — P. 475–496.
7. Gerard C., Colonna P., Buleon A., Planchot V. Amylolysis of maize mutant starches // *J. Sci. Food. Agr.* — 2001. — V. 81. — P. 1281–1287.
8. White P. Properties of corn starch // *Specialty corns*, 2nd ed.; A. R. Hallauer Ed. — Boca Raton — London — New York — Washington, D. C.: CRC Press, 2001. — P. 41–70.
9. Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. — Л.: Агропромиздат, 1987. — 430 с.
10. Juliano B. O. A simplified assay for milled-rice amylase // *Cereal Sci. Today.* — 1971. — V. 16. — P. 334–340.
11. Литун П. П., Проскурнин Н. В. Генетика количественных признаков. Генетические скрещивания и генетический анализ. — Киев: УМК ВО, 1992. — 96 с.
12. Fuwa H. Structural and physicochemical properties of endosperm starches possessing different alleles at the amylose-extender and waxy locus in maize (*Zea mays* L.) // *Starch: Staerke.* — 1999. — V. 51. — P. 147–151.

Резюме

Установлена количественная изменчивость линий и гибридов кукурузы — носителей мутации *ae* по диаметру крахмальных гранул, содержанию крахмала в зерне и амилозы в крахмале и проведен генетический анализ этих признаков. Показано, что использование взаимодействий ген: генотип может рассматриваться как результативный метод улучшения качества кукурузного крахмала.

Встановлено кількісну мінливість ліній та гібридів кукурудзи — носіїв мутації *ae* за діаметром крохмальних гранул, вмістом крохмалу в зерні та амілози в крохмалі і проведено генетичний аналіз цих ознак. Показано, що використання взаємодій ген: генотип може розглядатися як результативний метод поліпшення якості кукурудзяного крохмалу.

The quantitative variability of maize inbreds and hybrids — carriers of mutation *ae* on the starch granules's diameter, starch content in the grain and amylose in the starch content was established and genetic analysis of these characters was carried out. It has been showed that the utilization of gene: genotype interactions may be considered as the effective method of maize starch quality's improvement.

ТКАЧОВ В. І., ГУЛЯЄВ Б. І., ЯРОШЕНКО О. А.

*Інститут фізіології рослин і генетики НАН України,
03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17*

РЕГУЛЯТОРИ РОСТУ РОСЛИН ФІТОГОРМОНАЛЬНОЇ І РЕТАРДАНТНОЇ ДІЇ В ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОЩУВАННЯ СОНЯШНИКА

Україна займає провідні позиції на ринку насіння і олії соняшнику, які досягли 23,7% і 27,5% світового рівня відповідно. За даними Держкомстату в 2010 році було засіяно 4525,6 тис. га соняшника, валовий збір склав 6769,4 тис. тон, при середній врожайності 15,0 ц/га [2]. В 2010 році рентабельність виробництва соняшника складала 64,5%, що є найбільшою серед сільськогосподарських культур. Однак, подальше нарощування експортно-

го потенціалу за рахунок збільшення площ посівів сояшника неможливе, так як нинішні площі (~15 % орних земель) вже набагато перевищили критичну межу, призвели до порушення норм природокористування, зниження родючості ґрунтів і їх деградації. Недотримання сівозміни викликає збіднення мікрофлори ґрунту, перевитрати мінеральних добрив, особливо азотних, масове розповсюдження хвороб і шкідників сояшнику, збільшене пестицидне навантаження на довкілля, що зумовлює зниження врожайності і рентабельності вирощування сояшника в близькому майбутньому. Вихід тільки один — підвищення врожайності сояшника. Для цього необхідне державне обмеження посівних площ, науково обґрунтоване дотримання сівозміни, виведення і використання більш інтенсивних районованих сортів і гібридів сояшника з потенційною врожайністю 50–60 ц/га, розробка і впровадження систем основного і передпосівного обробітку ґрунту, живлення і захисту рослин.

Одним з важливих чинників вирішення даної проблеми є використання регуляторів росту, які, крім збільшення врожайності, посилюють його стійкість до абіотичних факторів середовища. В Україні зареєстровано декілька рістрегулюючих препаратів для підвищення продуктивності сояшника, в тому числі біоглобін, що містить поліпептиди, вимпел, дорсай (поліетиленгліколі), деймос (гумати, фітогормони, диметилсульфоксид), емістим С (фізіологічно активні речовини та інші [6]. Так, використання препарату Post-концентрат, який містить гумати і мікроелементи у хелатованій формі, дозволяє, на думку авторів [3], скоротити на 30 % внесення мінеральних туків і підвищити коефіцієнт використання останніх на 80 %. Інший препарат — трептолем містить комплекс 2,6-диметилпіридину з янтарною кислотою та емістиму С, виробництва ДП Міжвідомчого НТЦ «Агробіотех» та ЗАТ «Високий врожай» (Україна). В свою чергу емістим С є продуктом біотехнологічного вирощування грибів-епіфітів з кореневої системи обліпихи і женьшеню, містить збалансований комплекс регуляторів ауксинової, цитокінінової природи, амінокислот, поліцукрів та інших метаболітів. Було встановлено, що за рахунок екзогенної фітогормональної регуляції розвитку рослин сояшника препаратом трептолем досягається ріст врожайності насіння до 17 %, вмісту олії до 0,5 % та зменшення ураження посівів білою гниллю (1,8–11,3 рази) [1].

В цілому зареєстровані препарати можливо розділити на групи за вмістом речовин і механізмами їх дії:

- 1) фітогормони або їх синтетичні аналоги ауксинової, кинетинової дії;
- 2) комплекс мікроелементів (ближче до добрив);
- 3) високомолекулярні органічні речовини (гумати, поліпептиди, поліцукри);
- 4) плівкоутворювачі (поліетиленгліколі, поліцукри);
- 5) посилювачі транспорту діючих речовин в рослину (диметилсульфоксид, поліетиленгліколі).

Однак, в Державному реєстрі відсутні препарати, які мають у складі важливий клас рістрегулюючих речовин — ретарданти. Вчені Інституту фізіології рослин і генетики НАНУ та Вінницького національного університету провели низку досліджень біологічної ефективності регуляторів росту ретардантної дії (паклобутразолу і хлормекватхлориду) на рослини олійної культури — ріпаку, шляхом гальмування розростання вегетативних органів і перерозподіл асимілатів на ріст стручків та насіння [4]. Встановлено, що використання речовин ретардантної дії зумовлює підвищення насінневої продуктивності і виходу олії з ріпаку на 15–18%, а в поєднанні з плівкоутворювачами поліетиленгліколями різної молекулярної маси, продуктивність зростала на 25%.

З метою розширення застосування ретардантів на інших олійних культурах та поєднання в одній обробці речовин фітогормональної і ретардантної дії нами запропоновано використання для обробітку посівів соняшнику в фазу 8–12 справжніх листків водного розчину біостимулятора росту трептолему (10–15 мл/га) та ретарданту хлормекватхлориду (750 мл діючої речовини на га).

В 2008 році проведено виробниче випробування ефективності дії суміші трептолему і хлормекватхлориду на врожайність соняшника в Вінницькій державній дослідній станції Інституту кормів УААН на площі 35 га (табл. 1).

Встановлено, що обробка посівів рістрегулюючою сумішшю збільшувала врожайність на 15,27%.

В 2010 році проведено виробниче випробування ефективності дії суміші трептолему і хлормекватхлориду в ґрунтово-кліматичних умовах Ямпільського району Вінницької області на полях ПП «Рідний край» на площі 38 га (табл. 2).

Отримана прибавка до врожаю 3,59 ц/га або 22,12%.

В 2010 році за тривалої ґрунтової посухи проведено виробниче випробування ефективності дії суміші трептолему і хлормекватхлориду в ґрунто-

Таблиця 1

Дія суміші трептолему і хлормекватхлориду на врожайність гібриду соняшнику КВС «Гелія 06», 2009 р.

Варіант	Врожайність, ц/га	Прибавка до врожаю, %
Контроль, без обробки	27,11	0
Обробка трептолемом і хлормекватхлоридом	31,25	15,27

Таблиця 2

Дія суміші трептолему і хлормекватхлориду на врожайність гібриду соняшнику ПР 63–90 А 90, 2010 р.

Варіант	Врожайність, ц/га	Прибавка до врожаю, %
Контроль, без обробки	16,23	0
Обробка трептолемом і хлормекватхлоридом	19,82	22,12

Таблиця 3

Дія суміші трептолему і хлормекватхлориду на врожайність гібриду соняшнику

Варіант	Врожайність, ц/га	Прибавка до врожаю, %
Контроль, без обробки	14,0	0
Обробка трептолемом і хлормекватхлоридом, підживлення сечовиною 10 кг/га	20,6	47,14

во-кліматичних умовах Чернігівського району Чернігівської області на полях ТОВ «Чернігівська індустріальна молочна компанія» на площі 10 га (табл. 3).

Обробка посівів рістрегулюючою сумішшю разом з позакореневим підживленням сечовиною збільшила врожайність на 6,6 ц/га або на 47,14%, що зумовлене, в тому числі, посиленням посухостійкості оброблених рослин.

Таким чином, застосування регуляторів росту фітогормональної і ретардантної дії на посівах соняшнику сприяє підвищенню врожайності та посухостійкості рослин, більш ефективному використанню мінеральних добрив [5].

Література

1. Грицаєнко З. М., Пономаренко С. П., Карпенко В. П., Леонтюк І. Б. Біологічно активні речовини в рослинництві // К.: ЗАТ «Ніч лава». — 2008. — 352 с.
2. Катиук С. Стан та перспективи українського олієпрому // Пропозиція. — 2011. — № 6 (192). — С. 52–55.
3. Крупський А. Оптимізація позакореневих підживлень соняшнику // Пропозиція. — 2011. — № 6 (192). — С. 76.
4. Патент України № 34705 «Спосіб підвищення насіннєвої продуктивності ріпаку» Кур'ята В. Г., Рогач В. В., Гуляєв Б. І., Кірізій Д. А., Ткачов В. І. Опубл. 26.08.2008, Бюл. № 16.
5. Патент України № 65748 «Спосіб підвищення насіннєвої продуктивності соняшнику» Ткачов В. І., Старостишин В. М., Гуляєв Б. І., Кур'ята В. Г. та інш. Опубл. 12.12.2011, Бюл. № 23.
6. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні // К.: Юнівест Медіа. — 2010. — 543 с.

ТРАЧ В. В.

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України,
Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: valentr2000@rambler.ru

ВИВЧЕННЯ МОЖЛИВОСТІ МОДИФІКАЦІЇ ФІТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ПІРОКСУЛАМУ

Відомо, що різні генотипи рослин по-різному реагують на обробку гербіцидами. Вибірنا фітотоксичність гербіцидів є однією з центральних проблем сучасної фізіології рослин. Інтерес до цієї проблеми зумовлений широкими масштабами застосування гербіцидів і необхідністю максимального підвищення їх вибіркої фітотоксичності [1].

У попередніх дослідженнях нами було вивчено вплив еліситору хітозану на фітотоксичну дію суміші грамініциду феноксапроп-р-етилу з гербіцидом-прооксидантом метрибузином на різні за чутливістю до феноксапроп-р-етилу генотипи рослин. Встановлено, що додавання еліситору хітозану істотно підвищувало фітотоксичну дію суміші гербіцидів на чутливі до феноксапроп-р-етилу рослини вівса (модель однорічних злакових бур'янів) і дещо послаблювало шкідливу дію гербіцидів на стійкі рослини озимої пшениці, що свідчить про принципову можливість підвищення вибіркої фітотоксичності феноксапроп-р-етилу за рахунок використання еліситору [2]. В літературі практично відсутні дані про спільне застосування гербіцидів різних механізмів дії і хітозану за позакореневої обробки рослин.

Гербіциди, механізм фітотоксичної дії яких полягає у інгібуванні ферменту ацетолактатсинтази (АЛС), є найбільш ефективними сучасними гербіцидними препаратами, що характеризуються широким спектром контролюваних видів бур'янів й застосовуються на багатьох сільськогосподарських культурах. Незважаючи на це, при застосуванні препаратів інгібіторів АЛС можуть виникати проблеми з контролюванням окремих стійких видів бур'янів. Зокрема, це стосується гербіциду піроксуламу. Як показали випробування, препарат паллас 45 ОД (піроксулам, 45 г/л + антидот, 90 г/л) у нормах 0,15–0,2 л/га ефективно знищував у посівах пшениці однорічний злаковий бур'ян *Apera spica-venti* (L.) Pal. Beauv. Для знищення іншого однорічного злакового бур'яну *Avena fatua* L. норму внесення гербіциду паллас необхідно було підвищувати до 0,3–0,4 л/га. Однак навіть у підвищених нормах гербіцид паллас 45 ОД не контролював такі шкочинні види дводольних бур'янів як *Centaurea cyanus* L. та *Matricaria inodora* L. У зв'язку з цим перспективним є пошук засобів підвищення ефективності дії гербіциду піроксуламу за рахунок стимулювання вторинних індукованих реакцій.

Матеріали і методи

Дослідження проводили в умовах вегетаційних дослідів, у яких тест-об'єктом були рослини вівса сорту Чернігівський 28 як модель вівсюга (чутливий до дії піроксуламу однорічний злаковий бур'ян (*Avena fatua* L.)) та горох сорту Камелот (як чутлива модель дводольного бур'яну). Рос-

лини вирощували у пластикових посудинах у ґрунті (суміш ґрунту з піском у співвідношенні 3:1) на вегетаційному майданчику. У дослідженнях використовували гербіцид піроксулам, а також еліситор хітозан (ЕС) і саліцилову кислоту (СК).

Фітотоксичність гербіциду визначали за показником інгібуючої дії (ІД) на наростання маси сирової речовини надземної частини рослин. Значення ІД у відсотках розраховували за формулою $ІД = 100 - X \cdot 100 / K$, де X — середня маса однієї рослини у варіанті, обробленому гербіцидом, а K — середня маса однієї рослини у контролі. Статистична обробка результатів здійснювалася за допомогою стандартного комп'ютерного пакету Microsoft Excel.

Результати та обговорення

Окрім фітотоксичних сполук стресові реакції можуть стимулюватися і компонентами сигнальних систем рослин, зокрема саліциловою кислотою, яка є інтермедіатом стресової реакції за дії як біотичних, так і абіотичних стресорів, та еліситорами, які беруть участь у формуванні стресової відповіді на дію патогенів. У зв'язку з цим були проведені дослідження можливості підвищення фітотоксичної дії гербіциду піроксуламу за його застосування у суміші з СК та ЕС.

Із даних табл. 1 видно, що обробка рослин СК не вплинула негативно на їх ріст, а ЕС дещо стимулював ріст рослин. Фітотоксична дія піроксуламу зростала при підвищенні його концентрації з 10^{-5} М до $5 \cdot 10^{-5}$ М, за якої досягала насичення, оскільки подальше підвищення концентрації до 10^{-4} М не призводило до збільшення цієї дії. Додавання як ЕС, так і СК достовірно збільшувало фітотоксичну дію за меншої концентрації піроксуламу 10^{-5} М та не впливало на фітотоксичну дію при досягненні нею насичення, тобто за концентрації піроксуламу $5 \cdot 10^{-5}$ М.

Особливий інтерес викликала можливість підвищення фітотоксичної дії піроксуламу на дводольні види рослин. На рослинах гороху, так само як і на рослинах вівса, не було виявлено фітотоксичної дії за обробки рос-

Таблиця 1

Фітотоксична дія гербіциду піроксуламу на рослини вівса (модель злакових бур'янів) через 14 діб після обробки

№	Варіант	Фітотоксична дія (%)
1	Піроксулам (10^{-5} М)	14
2	Піроксулам ($5 \cdot 10^{-5}$ М)	55
3	Піроксулам (10^{-4} М)	54
4	Піроксулам (10^{-5} М) + СК ($5 \cdot 10^{-4}$ М)	23
5	Піроксулам ($5 \cdot 10^{-5}$ М) + СК ($5 \cdot 10^{-4}$ М)	54
6	Піроксулам (10^{-5} М) + ЕС (0,1 %)	26
7	Піроксулам ($5 \cdot 10^{-5}$ М) + ЕС (0,1 %)	55
8	СК ($5 \cdot 10^{-4}$ М)	0
9	ЕС (0,1 %)	-8
НІР _{0,95}		6

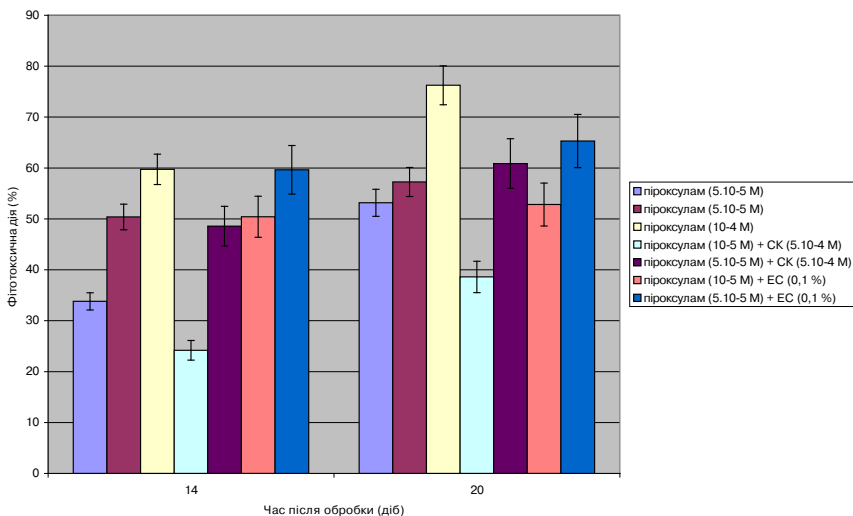


Рис. 1. Вплив салiцилової кислоти (СК) та елісатору (ЕС) на фiтотоксичну дію піроксуламу на рослини гороху

лин СК та ЕС. В той же час, додавання цих сполук до піроксуламу впливало на швидкість розвитку його фiтотоксичної дії.

З даних, наведених на рис. 1, видно, що, на відміну від рослин вiвса, на рослинах гороху при підвищенні концентрації піроксуламу від 5.10^{-5} М до 10^{-4} М фiтотоксична дія цього препарату зростала. За мінімальної концентрації піроксуламу 10^{-5} М додавання СК зменшило його фiтотоксичну дію. За концентрації гербіциду 5.10^{-5} М достовірних відмінностей між варіантами з додаванням СК та дією одного лише гербіциду не спостерігалося. Додавання ЕС достовірно збільшило фiтотоксичну дію піроксуламу через 14 дiб після обробки. При цьому за рахунок додавання ЕС фiтотоксична дія за концентрації гербіциду 5.10^{-5} М зростає до рівня його дії у концентрації 10^{-4} М.

Висновки

Отримані результати свідчать, що салiцилова кислота та елісатор можуть впливати на швидкість розвитку фiтотоксичної дії гербіциду інгібітору АЛС піроксуламу. Характер впливу, імовірно, залежить від швидкості індукції стресової реакції. Для прискорення фiтотоксичної дії гербіциду необхідно, щоб ця дія збігалася у часі з індукцією стресової реакції. У випадку, коли індукція стресової реакції відбуватиметься швидше за розвиток дії гербіциду, є імовірність її зменшення за рахунок неспецифічного підвищення резистентності рослини. У зв'язку з цим для розробки методів прискорення та підвищення фiтотоксичної дії гербіцидів інгібіторів АЛС за рахунок застосування індукторів стресових реакцій необхідно провести до-

слідження динаміки розвитку цих реакцій залежно від типу та концентрації відповідних фізіологічно активних сполук.

Література

1. Мордерер Є.Ю. Избирательная фитотоксичность гербицидов. — К.: Логос. — 2000. — 240 с.
2. Трач В.В., Паланиця М.П., Мордерер Є.Ю. Вплив елісатору хітозану на фітотоксичність суміші грамініциду феноксапроп-р-етилу з метрибузином // Физиология и биохимия культ. растений. — 2011. — 43, № 5. — С. 397–402.

Резюме

Исследовано влияние элиситора хитозана и салициловой кислоты на фитотоксическое действие пироксулама, относящегося к классу гербицидов, ингибирующих фермент ацетолактатсинтазу. Установлено, что при добавлении хитозана наблюдалось ускорение действия гербицида пироксулама на чувствительные виды растений.

Досліджено вплив елісатору хітозану і салицилової кислоти на фітотоксичну дію гербіциду піроксуламу, який відноситься до гербіцидів класу сульфонілсечовини, що інгібують фермент ацетолактатсинтазу. Встановлено, що додавання хітозану прискорювало дію гербіциду піроксуламу на чутливі види рослин.

Influence of elicitor chitosan and salicylic acid on the phytotoxic effect of herbicide pyroxulam, which is an inhibitor of enzyme acetolactate synthase was investigated. It is established that addition of chitosan caused an acceleration of action of herbicide pyroxulam on the sensible species of plants.

ТРУХАН В.А.

ГНУ ВИК Россельхозакадемии

Россия, 141055, МО, г. Лобня, ул. Научный городок, e-mail: vtrukhan@yandex.ru

МЕТОДЫ СОЗДАНИЯ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА КЛЕВЕРА ПОЛЗУЧЕГО (*TRIFOLIUM REPENS* L.) И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕТЕРОЗИСНЫХ ГИБРИДОВ F₁

Клевер ползучий (*Trifolium repens* L.) одна из ценных культур среди бобовых трав для сенокосов и пастбищ в условиях Нечерноземной зоны России. Для успешного решения задач, поставленных перед селекцией клевера ползучего, необходимо шире использовать всё его внутривидовое разнообразие и все имеющиеся методы селекционной работы.

В селекции клевера ползучего используют все виды отбора, межсортовую и внутрисортовую гибридизацию, создание сложногогибридных популяций, полиплоидию, химический мутагенез [1].

При изучении и испытании селекционного материала пользуются полевыми и лабораторными методами. Оценку селекционного материала проводят методом сравнения с лучшим районированным сортом по основным хозяйственно-биологическим признакам (урожайность зеленой массы, урожайность семян, качество корма и т.д.). Приближение условий возделыва-

ния данного селекционного материала к условиям производства его в данной зоне играет в селекции важную роль.

На первых этапах селекционного процесса оценка клевера ползучего в монокультуре дает лучшие результаты, чем при испытании со злаковым компонентом. Испытание в травосмеси, при скашивании или стравливании, необходимо проводить в последующих этапах селекции. Согласно рекомендации ВНИИ кормов [2], питомники отбора закладывают, как в чистом виде, так и на фоне злаковой травосмеси. Оценка номеров в контрольном питомнике проводится в одновидовом посеве, а сортоиспытание закладывается на пастбище в травосмеси с овсяницей и тимopheевкой.

В зависимости от задач, стоящих перед селекционером, используют тот или иной метод отбора. Индивидуальный же отбор является неотъемлемым методом при работе с исходным материалом любого происхождения [3].

Результаты исследований, проведенных в 1979–1986 гг. во ВНИИ кормов, показали перспективность химического мутагенеза на клевере ползучем при создании нового исходного материала с новыми улучшенными количественными и качественными признаками: раннеспелость, высокая кормовая и семенная продуктивность, совместимость и другие [4].

Межвидовая гибридизация и метод полиплоидии не нашли широкого распространения в селекции клевера ползучего. Эти методы могут оказаться лишь эффективными при решении таких селекционных задач, как лучшая адаптивность, устойчивость к болезням и вредителям, а также при получении фертильных гибридов с другими видами рода *Trifolium* L. [5]. Р. де Роо считает, что оптимальный хромосомный набор для клевера ползучего уже достигнут [6]. Существуют также данные, полученные на других сельскохозяйственных культурах (кукуруза, лен), подтверждающие, что отдаленная гибридизация не столь уж необходима, а реорганизация генома (достаточно глубокая) может осуществляться и при внутривидовых скрещиваниях [7, 8].

В результате внутривидовой гибридизации можно добиться сочетания у гибридного потомства полезных признаков и свойств родительских форм. Гибридный организм несет в себе, наряду с признаками и свойствами родителей, свои особенности, как результат конкретного сочетания, развития и проявления наследственных возможностей организма. Внутривидовая гибридизация клевера ползучего осуществляется двумя способами: путем искусственных скрещиваний и свободно-ограниченным переопылением отобранных форм в условиях изоляции. Проведение свободно-ограниченного переопыления действительно при условии, когда количество отцовских растений превышает в несколько раз количество материнских. Для этого могут использоваться как однократные типы скрещиваний (простые парные, реципрокные, множественные, топкроссы, диаллельные), так и многократные (беккроссы, конвергентные, ступенчатые, межгибридные).

В первом случае отбор клевера ползучего проводят непосредственно в гибридных потомствах, а во втором, гибриды повторно скрещивают с одним из родителей, с третьим сортом или другим гибридом, т. е. осуществляют целую систему скрещиваний.

Внутривидовая гибридизация тесно связана с явлением гетерозиса, т. е. свойством гибридов превосходить по определенным признакам лучшую из родительских форм. Гетерозис у бобовых трав проявляется при перекрестном опылении сортов-популяций, биотипов, самоопылённых линий, а также стерильных линий, обеспечивающих получение высокого уровня гетерозиса [9]. Программы гетерозисной селекции обычно направлены на использование неаддитивной генетической изменчивости. Они предусматривают генетическую дифференциацию исходного материала с возможно более широкой генетической основой на отдельные генотипы при помощи инбридинга [10]. Поэтому, лучший способ использования гетерозиса сельскохозяйственных культур — это производство F_1 чистых гибридов, обладающих высокой степенью гетерозиготности [3]. Однако получение таких линейных гибридов клевера ползучего затруднено из-за биологических барьеров. Клевер не образует семян при самоопылении [11].

Этот факт объясняется торможением роста пыльцевых трубок. Тем не менее, в селекционной практике разработана и рекомендована схема получения линейных гибридов клевера ползучего на основе временного подавления самонесовместимости [12]. При температуре воздуха 15–20 °C самоопыление не происходит. При температуре же — 25–35 °C у строгих перекрестников наблюдается так называемое явление псевдосовместимости [13]. Следует учитывать, что в поколениях, полученных в результате инбридинга, возникает депрессия: происходит снижение урожайности зеленой массы на 9–15%, снижается выживаемость и уменьшается величина растений [14]. Инцухт-депрессия возникает также в гибридных поколениях перекрестноопыляющихся культур при многократном индивидуальном отборе [3]. Использование метода семейственно-группового и индивидуально-семейственного отбора решает этот вопрос. Для фиксации инбридинга в селекции клевера ползучего можно с успехом использовать любые формы клонирования. Скрещивание отобранных по комбинационной способности инбредных линий можно повторять многократно с полной гарантией получения гибридов с тождественной генетической конституцией. Эффект гетерозиса практически широко используется на кукурузе и его перспективы на многолетних травах могут быть значительно выше. Однако, Г. Кобэйб считает, что объём работы, проделанной до того, как семеновод получит семена F_1 , довольно велик и это приводит к значительному росту затрат на производство семян по сравнению с таковыми у обычных сортов и, следовательно, большая часть прибылей от гибридного сорта будет потеряна [15].

Подбор родительских пар — важный этап синтеза сорта. Научные основы о подборе родительских пар при гибридизации заложены в России коллективом ученых во главе И. В. Мичуриным и Н. И. Вавиловым [3]. Первый и основной принцип заключается в подборе родительских пар для скрещивания из различных эколого-географических районов. Второй принцип подбора родительских пар — это учет возраста и индивидуальных особенностей скрещиваемых растений. В настоящее время в мире и в России создаются сорта синтетики, на основе массового анализирующего скрещивания и оценки комбинационной способности родительских форм. Из этих генотипов формируют начальное поколение (Syn_0), а семена последующего идут в производство. На основе оценок комбинационной способности родительских форм делаются рекомендации, касающиеся синтеза популяций и гибридов. Родительские линии, обладающие высокой общей и равной специфической комбинационной способностью, включают в состав синтетических популяций. Наилучшие результаты получают при создании популяций из 4–15 родоначальных линий или клонов [1, 10]. Те линии, которые обладают высокой общей комбинационной способностью и высокой изменчивостью специфической комбинационной способности, используют для синтеза простых, тройных и двойных гетерозисных гибридов.

Следует отметить, что в настоящее время только небольшая доля гетерозиса используется на основании этого метода. В результате длительного процесса испытаний — на этапах районирования, первичного и элитного семеноводства происходит снижение генетической чистоты гибридных образцов за счет их переопыления с дикорастущими популяциями и другими сортами. В лучшем случае в производство поступают семена гибридов пятого или шестого поколения. Поэтому у многолетних трав со временем фенотипические различия между сортами становятся менее заметными. Для производства синтетических сортов и чистых гибридов F_1 клевера ползучего в России необходимо будет менять подходы к селекционным программам, к первичному и элитному семеноводству. Для этого потребуются дополнительные затраты на организацию семеноводства и координацию взаимодействий различных объектов научной и производственной деятельности.

Селекционные программы по гибридизации могут быть осуществлены в полной мере при соблюдении следующих условий:

во-первых, необходимо присутствие эффекта гетерозиса при гибридизации родительских форм и, соответственно, требуется проведение исследований в этом направлении,

во-вторых, поддержание генетической чистоты родительских форм на основе клонирования и изолированного размножения в научных учреждениях,

в-третьих, изолированное размножение элитного потомства родителей в промышленных масштабах, предполагающее поддержание генетической

чистоты и производство семян только одного из родителей в больших объемах на отдельном сельскохозяйственном предприятии и,

в-четвертых, создание биомеханических смесей и получение потомства F_1 , идущего в сельскохозяйственное производство на луга и пастбища.

По такой схеме, когда две родительские формы высеваются в соотношении 1:1, или при использовании большего числа родителей для гибридизации, где в полевых условиях происходит естественное переопыление растений, на выходе мы не получим 100 % гибриды, так как часть семян будет приходиться на потомство популяций родителей. Учитывая это и то, что клевер ползучий — это многолетняя культура и держится в травостое до 10 и более лет, за счет способности к вегетативному размножению, эффект гетерозиса сохранится длительное время. Хотелось бы отметить, что в таких селекционных программах очень важным является правильно подбирать родительские формы для получения гетерозисных гибридов F_1 и синтетических сортов. Родительские формы, кроме оценок комбинационной способности по основным хозяйственным признакам, должны иметь схожие характеристики по прохождению фенологических фаз роста и развития растений в предполагаемых районах возделывания данного гибрида, отличаться синхронным цветением и одновременным созреванием семян.

Таким образом, в селекции клевера ползучего, несмотря на наличие возможности использоваться различных методов, при создании нового исходного материала внутривидовая гибридизация и отбор остаются основными методами селекции данной культуры. В настоящее время для создания прочной кормовой базы и повышения продуктивности лугов и пастбищ в России необходимо также внедрение новых селекционных программ по гибридизации и использованию синтетических популяций и гетерозисных гибридов F_1 клевера ползучего.

Литература

1. Новоселова А. С. Селекция и семеноводство клевера. — М., Агропромиздат, 1987. — 200 с.
2. Методические указания по селекции многолетних трав. ВНИИ кормов. — М., ВАСХНИЛ, ВНИИ кормов. — 1978. — 132 с.
3. Гужов Ю. Л. Генетика и селекция — сельскому хозяйству. — М.: Просвещение, 1984. — С. 108–115.
4. Купеева О. В. Создание исходного селекционного материала клевера ползучего (*Trifolium repens* L.) методом химического мутагенеза: Дис. ... канд. с.-х. наук. — М., 1988. — 130 с.
5. Taylor N. L., Quarles R. E., Anderson M. K. Methods of overcoming interspecific barriers in *Trifolium* // *Euphyca*. — 1980. — Vol. 29, N 2. — P. 441–449.
6. Roo de Jr. R. Recherches sur trefle blanc octoploïde (*Trifolium repens* L.) // *Revue de l'agriculture*. — 1976. — T. 29, № 2. — С. 231–240.
7. Durrant A. Unstable genotypes // *Phil. Trans. R. Soc. London*. — 1981. — B. 292. — P. 469–474.
8. Rivin C. J., Cullis C. A. Modulation of repetitive DNA in the maize genome. *Genetics*. — 104. — 1983. — P. 859–860.

9. Писковацкая Р.Г., Киреева О.В. Некоторые аспекты селекции клевера ползучего на гетерозис // Селекция и семеноводство. — 1986. — № 4. — С. 17–18.

10. Савченко В.К. Генетический анализ и синтез в практической селекции. — Минск: Наука и техника, 1986. — 95 с.

11. Бороевич С. Принципы и методы селекции растений. Пер. с сербохорв. — М.: Колос, 1984. — 344 с.

12. Connolly V., Wright-Turner R. White clover breeding // Proc EEC. Workshop. Braunschweig. — 1982. — P. 13–20.

13. Gibson P.B., Chi-Chang Chen. Success in hybridizing and selling *Trifolium repens* L. at different temperatures // Cr. Sci. 1973. — Vol. 13, № 6. — P. 728–730.

14. Core W.A. Effects of inbreeding of field performance of white clover selection // Cr. Sci. 1978. — Vol. 1, № 1. — P. 144–146.

15. Кобэйб Г. Гетерозис и производство гибридных семян злаковых кормовых трав // Гетерозис. Пер. с англ. — М.: Агропромиздат, 1987. — 165 с.

Резюме

В статье обсуждаются вопросы использования различных методов при создании нового исходного материала клевера ползучего и перспективы использования гибридов первого поколения в производстве.

У статті обговорюються питання використання різних методів при створенні нового вихідного матеріалу конюшини повзучої і перспективи використання гібридів першого покоління у виробництві.

The article discusses the use of different methods when creating a new source material of white clover and perspectives of the use of hybrids of the first generation in production.

ХОДАНІЦЬКИЙ В.К., ШВАРТАУ В.В.

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України,
03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: xvkl@yandex.ru

ВПЛИВ АМОНІЙНИХ ДОБРИВ НА НАКОПИЧЕННЯ АЗОТУ В РОСЛИНАХ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

В підвищенні продуктивності зернових культур основну роль відіграють сорти та технології вирощування. Висока продуктивність нових сортів забезпечується здатністю рости на високих фонах азотного живлення. Такі сорти пшениці мають підвищений коефіцієнт господарської ефективності [6].

Відомо, що з підвищенням потенційної врожайності пшениці знижуються якісні показники зерна (білковість, кількість сирої клейковини). Інститутом фізіології рослин і генетики НАН України створено ряд сортів, які здатні формувати високі врожаї понад 100 ц/га з відносно високою якістю зерна [3, 6].

Другим важливим компонентом підвищення врожайності озимої пшениці є вдосконалення систем азотного живлення. В останні роки почастишали весняні посухи. За цих умов внесення аміачної селітри на поверх-

ню ґрунту не завжди є ефективним. Недостатня зволоженість поверхневого шару ґрунту знижує доступність азоту для рослин пшениці. Ефективним є внесення твердих [7] або рідких амонійних добрив на відповідну глибину ґрунтового шару. Ряд провідних зерновиробників України вносять восени перед посівом амонійний азот на глибину до 20 см та отримують до 5–8 т/га [5]. Тому, метою нашої роботи було дослідити ефективність осіннього внесення амонійного азоту у формі сульфату амонію у порівнянні з внесенням аміачної селітри по вегетації та визначити особливості перерозподілу азоту між органами пшениці.

Матеріали та методи

Польовий дослід проводили в 2010–2011 роках на базі Дослідного сільськогосподарського виробництва Інституту фізіології рослин і генетики НАН України. В роботі використано два високопродуктивних сорти озимої м'якої пшениці Смуглянка та Переяславка [4]. В дослідних варіантах азот вносили у вигляді сульфату амонію восени однократно перед посівом на глибину 15–20 см в кількості 120 кг/га по діючій речовині. У контрольному варіанті вносили аміачну селітру восени та у весняні підживлення на поверхню ґрунту в загальній еквівалентній кількості азоту. В обох варіантах застосовували також фосфорні, калійні та сірчані добрива по 90, 90 та 20 кг/га відповідно по діючій речовині. Площа облікової ділянки 10 м², повторність 4–6-кратна.

Вміст загального азоту в рослинному матеріалі та в зерні пшениці визначали методом К'ельдаля [1]. Результати дослідження обробляли за допомогою комп'ютерних програм STATISTICA та Excel [2].

Результати і обговорення

Внесення амонійного азоту перед посівом у вигляді сульфату амонію змінювало інтенсивність накопичення азоту в різних органах рослин пшениці (див. табл.).

Таблиця

Вміст загального азоту (%) в органах високопродуктивних сортів озимої пшениці за різних форм азотного живлення

Фаза цвітіння				
Частина рослини	Смуглянка		Переяславка	
	аміачна селітра	сульфат амонію	аміачна селітра	сульфат амонію
Листки	2,9±0,05	3,0±0,06	3,1±0,03	3,2±0,04
Стебло	1,6±0,04	*2,2±0,04	1,8±0,05	1,7±0,03
Колос	2,3±0,08	*2,8±0,09	2,5±0,04	*2,9±0,08
Фаза повної стиглості				
Листки	0,6±0,06	0,8±0,05	0,7±0,08	0,9±0,05
Стебло	0,3±0,04	0,4±0,05	0,3±0,09	0,5±0,06
Зерно	2,4±0,05	*2,9±0,04	2,8±0,04	*3,0±0,05

Примітка: * — різниця з контролем достовірна при $P \leq 0,05$ /

У фазу цвітіння найбільша кількість азоту спостерігалася у листках рослин пшениці, найменша у стеблах. Кількість азоту в колосі залишалася дещо нижчою порівняно з листками. У фазу повної стиглості найменше азоту (0,3%) спостерігалася в стеблах рослин, а найвища кількість у зерні пшениці. У варіанті з однократним осіннім внесенням сульфату амонію зростала кількість азоту в різних частинах рослин порівняно з варіантами де аміачна селітра вносилися поверхневим способом. З наведених даних видно, що найбільші відмінності між варіантами у вмісті азоту спостерігалися в зерні обох сортів пшениці. Вища інтенсивність накопичення азоту в листках, стеблах та зерні у варіантах із внесенням сульфату амонію імовірно пов'язана з вищою доступністю азоту внесеного на глибину 15–20 см, тоді як при поверхневому розкиданні частина азоту в умовах посушливої весни та літа залишалася недоступною для рослин.

Сорт Переяславка інтенсивніше накопичував азот у фазу цвітіння та повної стиглості порівняно із сортом Смоглянка. Це пояснюється вищою пластичністю сорту Переяславка, тоді як сорт Смоглянка здатний формувати максимальні врожаї при оптимальних умовах вирощування. В умовах посухи сорт Переяславка дещо краще реагував на внесення азотних добрив порівняно із сортом Смоглянка.

Таким чином, однократне осіннє внесення сульфату амонію перед посівом сприяє кращій доступності азоту рослинам озимої пшениці, внаслідок чого рослини більш інтенсивно накопичують елемент у фазу цвітіння, що призводить до підвищення вмісту азоту в зерні пшениці у фазу повної стиглості.

Результати дослідів є основою для розробки високоефективних систем живлення посівів озимої пшениці азотом в умовах підвищення аридності клімату.

Література

1. Визначання загального вмісту азоту, модифікований метод К'ельдаля: ДСТУ 11261:2001 (Чинний від 01–07–2003). — К.: Держспоживстандарт України, 2003. — 11 с.
2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). — М.: Агропромиздат, 1985. — 351 с.
3. Кірізій Д. А., Починок В. М. Вміст азоту і функціональна активність листків і стебел озимої пшениці різних генотипів // Фізіологія і біохімія культурних рослин. — 2008. — 40, № 5. — С. 402–410.
4. Морзун В. В., Санін С. В., Швартау В. В., Омеляненко О. А. Клуб 100 центнерів. Сорти та технології вирощування високих урожаїв озимої пшениці. — К.: Логос, 2011. — 121 с.
5. Морзун В. В., Швартау В. В. Особливості живлення високопродуктивних сортів озимої пшениці в осінній період // Хімія. Агрономія. Сервіс. — 2009. — № 9. — С 18–21.
6. Морзун В. В., Швартау В. В., Кірізій Д. А. Фізіологічні основи отримання високих врожаїв пшениці // Фізіологія і біохімія культурних рослин. — 2008. — 40, № 6. — С. 463–478.

7. Olson R. V. Effects of field fertilizer practices on labeled ammonium-nitrogen transformations and its utilization by winter wheat // Plant and Soil.— 1987.— 97.— P. 189–200.

Резюме

Досліджували вплив внесення сульфату амонію та аміачної селітри на накопичення азоту різними сортами озимої пшениці. Виявлено позитивний вплив сульфату амонію на вміст загального азоту в рослинах озимої пшениці. Сорти Смуглянка і Переяславка мали різну інтенсивність накопичення азоту.

Исследовали влияние внесения сульфата аммония и аммиачной селитры на накопление азота разными сортами озимой пшеницы. Обнаружено положительное влияние сульфата аммония на содержание общего азота в растениях озимой пшеницы. Сорта Смуглянка и Переяславка имели разную интенсивность накопления азота.

Efficiency of the ammonium sulfate and ammonium nitrate application on the nitrogen accumulation of the different varieties of winter wheat was studied. It was found the positive effect of ammonium sulfate on the content of total nitrogen in the winter wheat plants. The differences of nitrogen accumulation for the varieties Smuglyanka and Pereyaslavka was founded.

ЩЕРБИНА О.З., МИХАЙЛОВ В.Г., СТАРИЧЕНКО В.М.

ІНЦ «Інститут землеробства НААН України»

Україна, 08162, смт Чабани, Києво-Святошинський район, Київська область,

e-mail: selectio@ukr.net

ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ В СЕЛЕКЦІЇ СОЇ НА СТІЙКІСТЬ ДО РОЗТРІСКУВАННЯ БОБІВ

Відмічено, що у сої існує схильність до розтріскування бобів, особливо скоростиглих і ультра скоростиглих сортів. Розтріскування більше проявляється в роки із сухою і спекотною погодою. Якщо ще й відбувається чергування короточасних дощів і сонячної погоди, розтріскування стає особливо сильним. По В.Б. Енкену, сортова мінливість за цією ознакою дуже велика [1].

Розтріскування бобів сої, особливо у скоростиглих сортів, є великою проблемою. Однією з причин підвищеного розтріскування бобів у скоростиглих сортів є суха і жарка погода, а також значне коливання добової температури. Тому необхідна розробка методів оцінки вихідного матеріалу сої по стійкості до розтріскування бобів.

За даними М.С. Яковлева, [1], Лещенко А.К. [6, 7] при досяганні клітин паренхімна і механічна тканини висихають і давлять на прошарок, який розривається і біб при цьому розкривається. Від розвитку цього прошарку залежить ступінь стійкості проти розтріскування бобів. Є сорти і селекційні форми, у яких прошарок клітин майже непомітний. Особливо розвинений він у зразків дикої уссурійської сої і багатьох форм японського підвиду, внаслідок чого їх боби розтріскуються.

Розтріскування бобів посилюється, коли відбувається швидка зміна теплої вологої погоди на суху. При довготривалому перестої після досягання і частих змін вологості розтріскування бобів може бути дуже сильним у багатьох сортів різних підвидів. В США характеризують сорти за розтріскуванням за такою методикою: обчислюють в ранній строк (дозрівання) та пізній (два тижні після дозрівання) відсоток відкритих бобів на рослині. Бал розтріскування визначають: 1 — немає розтріскування, 2–1 — 10%, 3–10 — 25%, 4–25 — 50% та 5 — більше 50% [8].

Матеріали і методи

Робота проводилась в ДП ДГ «Чабани» Києво-Святошинського району Київської області. Розсадники були закладені на чорноземних ґрунтах в полях селекційних сівозмісн по попереднику озима пшениця. Основний та передпосівний обробітки ґрунту здійснювали у відповідності з прийнятою в зоні агротехнікою. Мінеральні добрива вносили весною під передпосівну культивування, з розрахунку $N_{30}P_{60}K_{60}$. Розсадники сіяли широкорядним способом з міжряддям 45 см, з нормою висіву 600 тис. схожих насінин на гектар в конкурсному та попередньому сортовипробуваннях, а також в контрольному розсадниках, 500 тис. — у селекційному та колекційному розсадниках; стандарт — Юг — 30. Площа ділянки в конкурсному, попередньому сортовипробуванні та контрольному розсаднику — 10 кв. м., в селекційному та колекційному — 1,35 кв. м. Конкурсне сортовипробування було висіяне в 5 повтореннях, попереднє — в 2. Для боротьби з бур'янами застосовували до посіву гербіцид Харнес з нормою 2 л/га, а по сходах вносили Фабіан — 100 г/га, проводилось також одне рихлення міжрядь.

Протягом вегетаційного періоду проводили фенологічні спостереження, морфологічне описування колекції та селекційних номерів у відповідності з Методичними вказівками по вивченню зернобобових культур [4]. В польових умовах оцінювання селекційних номерів здійснювали згідно Міжнародного класифікатора РЕВ роду *Glycine* Willd. [3].

Бал розтріскування стулок бобів визначали за шкалою: 1 — не спостерігається або дуже слабка (до 6%), 3 — слабка (6–10%), 5 — середня (11–15%), 7 — сильна (16–20%), 9 — дуже сильна (більше 20%) [3]. Розтріскування визначають після повного дозрівання бобів. В своїй роботі керувались також Методикою польового дослідження [2].

В даному досліді вивчали 2300 селекційних номерів, в тому числі в конкурсному сортовипробуванні — 15 (враховуючи стандарти), попередньому сортовипробуванні — 15, контрольному розсаднику — 200, колекційному — 200, селекційному — 2150 номерів. У гібридному розсаднику F_1 і F_2 було 170 ділянок, у яких випробовували 42 гібридних комбінацій.

Результати і обговорення

Внаслідок сухого та жаркого періоду в період досягання ультра скоростиглих та скоростиглих сортів сої в 2010–2011 рр. склались сприятливі умови погоди для оцінювання селекційного матеріалу за розтріскуванням

стулок бобів. В цей період температура повітря часто сягала 30–35 °С. В ці роки весь селекційний матеріал було оцінено за даною ознакою і значна частина його анульовано. Не відбирали навіть ті зразки, у яких був розтрісканий хоча б один біб.

Проте в роки з несприятливими для розтріскування умовами в період досягання ультра скоростиглих та скоростиглих номерів або при доборі середньостиглих номерів оцінка в польових умовах буває неефективною. Тому необхідна розробка методів оцінки селекційного матеріалу в штучних умовах. Для цього нами використано термостат з регульованим рівнем вологості. Суть методу полягає у витримці рослин у фазі повної стиглості в термостаті при певних температурах та вологості повітря. Облік бобів, що витріскались, проводився через певні проміжки часу.

Розглядаючи в колекційному розсаднику гомологічний ряд спадкової мінливості ознак всіх диких видів сої, малокультурних форм і стародавніх сортів Південно-Східної Азії, бачимо, що всі вони мають схильність до розтріскування бобів після дозрівання. Імовірно, вона обумовлена наявністю в цих формах нормального аелея, або аелея дикого типу, що є найстарішим вираженням ознаки розтріскування.

В контрольованих умовах отримано такі дані (табл. 1).

Таблиця 1

Кількість розтрісканих бобів на 1 рослину у сої залежно від часу витримки та вологості повітря, %

Сорт	Час витримки, діб, і відносна вологість повітря, %					
	1 доба, 45 %	2 доби, 45 %	3 доби, 45 %	4 доби, 5 %	5 діб, 5 %	6 діб, 5 %
Ворскла	1,4	1,4	1,4	24,8	58,0	73,3
Вільшанка	1,2	1,2	1,5	24,7	56,8	71,9
Устя	1,3	1,3	1,5	24,7	57,4	72,6
№ 401	0,0	0,0	0,0	15,7	33,3	39,4

Сорти Ворскла, Вільшанка і Устя в природних умовах були достатньо стійкими і за шкалою оцінки їх бал дорівнював 1. Проте, в контрольованих умовах при високій температурі та мінливій вологості повітря вони на протязі трьох діб мали невелику кількість розтрісканих бобів, а саме: від 1,2 до 1,5 %, бал оцінювання також дорівнює 1. На 4 добу кількість розтрісканих бобів значно збільшилась до 24,7–24,8 %, на 5 добу — 56,8–58,0 %, на 6 добу — 71,9–73,3 % (бал розтріскування 9). Відібраний в попередні роки селекційний номер 401 дійсно в перші три доби в контрольованих умовах виявився абсолютно стійким, а на 4, 5 і 6 добу кількість розтрісканих бобів у нього відповідно становила 15,7, 33,3 і 39,4 %, що значно менше, ніж у попередньо названих сортів. Таким чином, в контрольованих умовах достатньо проводити оцінку по розтріскуванню бобів лише трое діб, створюючи почергово умови посухи і вологості. В цих умовах були виділені як стійкі такі селекційні номери і сорти: Устя, Хвиля, Сузір'я, 27–09, 276–09, 534–09, 538–09, 625–09, 689–09, 784–09, 883–09, 1021–09, 1053–09 та інші.

В таблиці 2 наведена характеристика скоростиглих високопродуктивних номерів, відібраних в природних умовах жорсткої посухи 2010 року як стійкі до розтріскування бобів. В умовах посухи 2011 року всі відібрані попереднього року селекційні номери також виявились стійкими до розтріскування бобів.

Заслуговує на увагу номер 359–06, який при тривалості періоду вегетації 101 день, рівні врожайності насіння 3,03 т/га перевищив стандарт Юг 30 на 0,75 т/га.

Таблиця 2

Результати конкурсного сортовипробування скоростиглих номерів сої, стійких до розтріскування бобів, 2011 р.

№ п/п	Сорт, селекційний номер	Батьківські форми		Тривалість періоду вегетації, днів	Урожайність, т/га	Відхилення від стандарту Юг-30, т/га
		♀	♂			
1	Юг-30			103	2,29	0,00
2	328–05	К-91	Устя	101	2,52	0,23
3	359–06	Юг-30	Устя	101	3,03	0,75
4	382–06	Юг-30	Устя	101	2,69	0,40
5	Вільшанка			103	2,88	0,59
6	Хвиля			105	2,89	0,60
7	283–02	№ 995	Чернятка	109	3,06	0,77
8	311–05	К-451	Устя	109	2,89	0,60
9	186–07	К-91	Sito	108	2,92	0,63
10	231–06	К-451	Устя	103	2,90	0,61
11	321–08	Юг-30	Єлена	130	2,99	0,71
12	322–08	Юг-30	Єлена	100	2,90	0,61
13	320–08	Юг-30	Єлена	100	2,91	0,62
14	348–08	Юг-30	Єлена	100	3,08	0,80
15	684–08		Устя	100	2,94	0,65
НІР ₀₀₅ = 1,8 ц/га						

Найбільш продуктивним виявився номер 348–08, який при тривалості періоду вегетації 100 днів, рівні врожайності насіння 3,08 т/га перевищив стандарт на 0,80 т/га. Заслуговує на увагу також селекційний номер 283–02, який при тривалості періоду вегетації 109 днів, рівні врожайності насіння 3,06 т/га перевищив стандарт на 0,77 т/га, а також № 321–08, для якого ці показники відповідно становили 103, 2,99 і 0,71, № 684–08–100, 2,94 і 0,65, № 320–08–100, 2,91 і 0,62, № 186–07–108, 2,92 і 0,63 та № 231–06–103, 2,90 і 0,61.

В попередньому сортовипробуванні найбільш урожайним виявився номер 875–08, який при тривалості періоду вегетації 111 днів, рівні врожайності насіння 3,19 т/га перевищив стандарт Юг 30 на 0,7 т/га. Виділили також деякі інші селекційні номери такі, як: № 1004–09, для якого дані показники відповідно становили 111, 3,09 і 0,61; № 1037–09–110, 3,07 і 0,58; № 645–09–111, 2,91 і 0,42 та № 375–09–109 днів, 2,75 і 0,26 Т/га.

В контрольному розсаднику виділені стійкі до розтріскування селекційні номери з тривалістю періоду вегетації 105–111 днів і урожайністю насіння 2,7–3,47 т/га. Серед них кращими є: № 124–10 (врожай насіння 3,21 т/га), № 3810–09 (3,47 т/га), № 627–08 (3,36 т/га), № 280–06 (3,27 т/га), № 720–08 (3,26 т/га), № 375–06 (3,2 т/га), № 442–08 (3,18 т/га), № 418–08 (3,18 т/га), № 774–10 (3,18 т/га) та інші.

Література

1. Енкен В. Б. Соя. — М.: Сельхозгиз, 1959. — 622 с.
2. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта. — М., 1985. — 351 с.
3. Международный классификатор СЭВ рода *Glycine* Willd. — Л., 1990. — 46 с.
4. Методические указания по изучению зерновых бобовых культур. — Л., 1975. — 59 с.
5. Корсаков Н. И. Географические очаги формообразования и гомологические ряды в наследственной изменчивости признаков рода *Glycine* L. // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции // Л.: 1982. — Том 72, вып. 1. — С. 3–13.
6. Культура сої на Україні. — К.: Укр. Акад. с.-г. наук, 1962. — 325 с.
7. Леценко А. К. Культура сои. — К.: Наукова думка, 1978. — 235 с.
8. Randall L. Nelson Paul J. Amdor James H. Orf James F. Cavins. Evaluation of the USDA Soybean Germplasm Collection: Maturity Groups 000 to IV // U.S. Department of Agriculture Technical Bulletin № 1726, 188 p. — 1988.

Резюме

Розроблена методика оцінки селекційного матеріалу сої по розтріскуванню ступок бобів; в природних і контрольованих умовах як стійкі до розтріскування бобів відібрано такі селекційні номери: 401, 581–10, 954–09, 385–10, 710–09, 825–10, 746–10, № 348–08, № 321–08.

Разработана методика оценки селекционного материала сои по растрескиванию створок бобов; в естественных и контролируемых условиях как устойчивые к растрескиванию бобов отобраны такие селекционные номера: 401, 581–10, 954–09, 385–10, 710–09, 825–10, 746–10, № 348–08, № 321–08.

The technique of an estimation of a breeding material of a soya on dehiscence valves of beans is developed; in the natural and supervised conditions as resistant to dehiscence of beans such breeding numbers are selected: 401, 581–10, 954–09, 385–10, 710–09, 825–10, 746–10, № 348–08, № 321–08.

CALUGARU-SPATARU T., PARII I.A.*, DASCALIUC A.

*Institute of Genetics & Plant Physiology ASM, Moldova, 2002, Chisinau, Padurii 20,
e-mail: dascaliuca@yahoo.com*

**Ukrainian Plant Breeding Institute, Ukraine, 03022, Kyiv, Vasilkivska 30,
vnis.ua@gmail.com*

PROBLEMS OF INTRODUCTION GOLDEN ROOT (*RHODIOLA ROSEA* L.) IN AGRICULTURE

Rhodiola rosea is a valuable medicinal plant, which belongs to the *Crassulaceae* family. This species is historically endemic to many parts of the world, including North Asia, Alaska, northern parts of Europe and the mountains

of Central Europe, including the Carpathian Mountains. The adaptogen effects of *R. rosea* are manifested in the prevention of tiredness, and increase of learning and memory capacity, prevention of age related disorders and diseases, and avoidance and elimination of depression and sexual disorders [1]. The following curative effects of *R. rosea* have been documented: anti-arrhythmic properties; cardio protection against ischemic damage; protective effects for the liver; strong general anti-oxidative protection at the cellular level; prevention of age related disorders and diseases; anti-tumor effects; and attenuation of adverse effects of chemotherapy [1, 2]. By limiting the adverse effects of free radical damage *R. rosea* extracts are able to combat the diseases associated with aging and cell mutagenesis, an immediate cause of cancer.

The active substances found in the extracts from *Rhodiola rosea* belong to several chemical groups, namely: phenylpropanoids, phenyletanoids, monoterpenes, flavonoids, coumarins, and organic acids [2]. The most uniquely active chemical constituents are the phenylpropanoids, rosavin, rhodiolin, rosarin, rosin, salidroside, p-tyrosol. Out of about 200 species of *Rhodiola* only *Rhodiola rosea* contains rosavin. The quality of *Rhodiola rosea* extract is determined by the content of rosavin and salidroside. Salidroside is contained in other similar *Rhodiola* species and should no be used as the only marker compound[2/.

Golden root is highly valued in many herbal remedy treatments and traditional medicines. Due to its intensive collection from the nature, indeed, its rapidly growing acceptance in the herbal supplements industry suggests that demand for this plant will continue to grow at a rapid rate in the future. Based on these factors, we have initiated a multidisciplinary research to enable the rapid introduction of *R. rosea* in agriculture. The first step was to determine the content of secondary metabolites in rhizomes of *Rhodiola rosea* that a growing in the Romanian Carpathian Mountains that serve as a source of genotypes for selection and introduction in agricultural practice. The obtained experimental results are included in our presentation.

Material and methods

Initial biological materials. Seeds and rhizomes of *Rhodiola rosea* were collected at the beginning of September at the altitude of 1700–1800 m on the Ineu Mountain, Eastern Carpathian massive of Romania.

Rhodiola rosea propagation. Seedlings were obtained from seeds germinated after stratification during 30 days. Sterilized buds from rhizomes of selected plants were used for initiating the rapid multiplication *in vitro* and callus initiation [3].

Extraction of secondary metabolites. 2 g of *Rhodiola rosea* L. dried rhizomes were macerated into small pieces (2–3 mm) and then extracted with MeOH (60%) at room temperature and at constant strong stirring within 1.5 hours. The methanolic extract was filtrated and 1 ml of extract was chromatographed on a silica gel column (1.5 cm x 25 cm, SiO₂, 5 g, L 40/100), eluted with a mixture of CHCl₃: MeOH (1:1, 100 ml). The four last fractions were combined, the solvent

was removed. The residue (20mg) was dissolved one more time in MeOH (1 ml), and prepared for injection in HPLC.

HPLC analysis of secondary metabolites. Analyses were carried out using an Agilent 1100 series HPLC. The analytic column was a Zorbax RX 300 C-18, with guard column 300 SB C-18. Mobile phase was a mixture of MeCN: H₂O (in gradient from 2 to 100%, after that to 0%) with preliminary washing with phosphate buffer (0.025 M). Flow rate — from 0.2 up to 0.8 ml/min. Maximal pressure — 300 Bar, analyze time was 65 min. Detection was performed by DAD on 222, 254 and 280 nm [4].

Steam distillation (SD) of volatiles from rhizomes of Rhodiola. The distillation apparatus consisted of a heating cap, 0.1 ml extraction flask, a 5 ml graduated receiver (Dean and Stark) and condenser. 2 g of *Rhodiola rosea* L. rhizomes were macerated into small pieces (2–3 mm) and 50 ml water were used and the distillation was carried out for 6 hours after reaching the boiling point. The obtained distillate was extracted supplementary with diethyl ether. After a filtration, it was dried up and used for sample preparation by diluting in acetonitrile.

HPLC analysis of secondary volatiles from rhizomes of Rhodiola. Analyses were carried out using an Agilent 1100 series HPLC. The analytic column was a Zorbax XDB C-18, with guard column Extend C-18. Mobile phase was a mixture of MeCN: H₂O (in gradient). Flow rate — from 0.4 up to 1.2 ml/min. Maximal pressure — 300 Bar, temperature 40°C, analysis time was 43 min. Detection was performed by DAD on 195, 200 and 210 nm.

Results and discussions

Large information about the composition of secondary metabolites in rhizomes of the genotypes grown in the mountains of Siberia and Northern Russia exist [2, 5]. To our knowledge we have provided for the first time analysis of rhizomes collected in Romanian Carpathian Mountains. Extracted and purified secondary metabolites were separated into components in column filled with the SiO₂, utilizing the method RP-HPLC. Monitoring of samples for of content of secondary metabolites was carried out at in 222 nm and 280 nm (the maximum adsorption of salidroside and cinnamic alcohol) and at 254 nm, at which the specific adsorption of phenylpropanoids (rosavin, rosin and rosarin) is known [4]. Results shown that maximum adsorption of secondary metabolites from *Rhodiola rosea* rhizomes is observed at 222 nm. At 254 nm only phenylpropanoids rosavin and rosin demonstrated a detectable adsorption. The retention indices and the pronounced adsorption at 254 nm, support the vision that detected components are rosavin and rosin. As was expected [4], all essential secondary metabolites demonstrated detectable adsorption at 222 nm. The retention indices and relative area (peak area related to integral areas of all peaks) of these compounds are presented in Table. 1

The identity of components was confirmed by the comparison of retention time and intensity of adsorption characteristics of different compounds with those

Table 1

The retention time, peak area and intensity of adsorption of major compounds of secondary metabolites of *Rhodiola rosea* rhizomes separated by HPLC and detected at 222 nm

Compounds	Retention time, min.	Peak area, %	Intensity, mAU
Methylgallate	2.29	6.61	450
Tyrosol	11.38	10.05	475
Gallic acid	24.35	8.34	150
Salidroside	25.20	13.45	200
Rosavin	42.30	11.01	2500
Rosin	45.03	0.90	250
Rosarin	47.54	1.40	100
Cinnamic alcool	60.45	2.40	600

Table 2

The retention time, peak area and intensity of adsorption of major components of aromatic components of *Rhodiola rosea* rhizomes separated by HPLC and detected at 195nm

Compound	Retention time, min.	Peak area, %	Intensity, mAU
Limonene	13.18	7.73	1600
Phenylethyl alcohol	13.67	0.11	25
p-Cymene	16.27	21.24	2500
Carvona	23.78	2.64	300
Geraniol	26.02	19.97	2200
Linalool	26.76	1.38	150
Carvacrol	27.43	3.19	300
Thymol	28.55	0.38	50
Caryophyllene	41.38	0.56	250

described in scientific literature [2, 4, 5]. We also obtained some confirmation by utilizing markers and also by ^1H , ^{13}C NMR and IR analyses. Among compounds separated preparative we could mention the tyrosol, the structure of which was confirmed by ^1H , ^{13}C NMR and IR analyses.

In result of the steam distillation of 20 g of dry rhizomes of *Rhodiola rosea* we have obtained yellow aromatic oils (0.05 % of dry wt.), that is in accordance with the oils content of in rhizomes of Norway origin [6] and less than that in rhizomes of Russian origin [2]. The quantitative characteristics of *Rhodiola rosea* aromatic compounds separated by HPLC are presented in table 2. Our results confirm the data about composition of essential oils in *Rhodiola rosea* rhizome published by other authors [2, 6]. The most representative compounds are p-Cymene, Geraniol, and Limonene. The peak areas and intensity of signals of these compounds after HPLC separation dominated in comparison with other components (see table 2). It is interesting to note that geraniol was identified as the most important rose-like odor compounds of *Rhodiola rosea* rhizomes [6]

By HPLC analysis we have detected in *R. rosea* rhizomes of Carpathian origin the main markers compounds (salidroside, rosarin, rosavin, rosin, methylgallate, tyrosol, gallic acid, and cinnamic alcool) that were described for rhizomes of Russian origine [2, 5]. It is also important to point that essential oils

from these rhizomes also have contained compound characteristics for *Rhodiola rosea* described in literature [6]. In separate experiments we were not able to detect the mentioned complete spectrum of secondary metabolites and in callus cells and artificial cultivated plants of *Rhodiola rosea*.

It is known that *Rhodiola rosea* and other *Rhodiola* species are heterogeneous. This could be a serious obstacle to correct determination of species for particular plants, especially if these plants are supplied as seeds from commercial sources or individual growers. At the beginning of our research, we only had available seeds that were purchased or obtained as a gift from such individuals, and which were supposed to be *R. rosea*. These seeds were very small and it was impossible to determine the species based on their morphologic appearance. When we compared plantlets obtained from the seeds collected during our expeditions and those from other sources, we noticed large morphological and biological differences. Plants that were obtained from seeds that we collected had characteristic oblong elliptic leaves, typical of *R. rosea*, and produced multiple stems

It has been shown that seeds of *R. rosea* are characterized by a combined physical and physiological dormancy at different levels. Seeds with such types of dormancy germinate only after stratification and produce seedlings that mature at different rates and that possess different developmental rhythms. The best level of seeds germination was achieved after 1 month of stratification (95%). We found that longer stratification treatments did not improve the percent germination or the mean time of germination. From these results, we determined that one month is the optimal period for *R. rosea* seed stratification.

Our observations have shown that in natural habitats, the generative period of *Rhodiola*, reaching maturity from the dormant seeds, may take up to 3–4 years. In artificial conditions, however, mature plants were obtained from stratified seeds is only 1–2 years, but flowering and seed set was still irregular under these conditions. For multiplied *in vitro* plants the ontogenesis is often accelerated. From these results, it appears that development of suitable multiplication methods for *R. rosea* is of great importance.

The plants growing in natural and those obtained artificially from germinated seed were very heterogeneous regarding their shape, growth habit and other morphological features. Extracts from rhizome samples from the collected genotypes showed that all components that are specific for *R. rosea* were present. The relative content of active components in rhizomes of 4-years old plants, cultivated in Ungheni area of Moldova was variable. Also a large variance in growth rate of different individuals was observed. Taking this into account, the most vigorous individuals were selected introduced and propagated *in vitro*.

After *in vitro* multiplication and cultivation in field conditions, basing on the descendents from one of the clones, the variety Tatiana was selected. The plants of this variety are characterized by intensive growth, vigor, and uniform

flowering of 4–5 years plants. This variety has been submitted for certification in Ukraine and will be submitted for certification in Moldova.

The research described in this work was made possible in part by the CRDF Award No. MA1–3029. Any opinions, finding and conclusions or recommendations expressed in this material are those of authors and do not necessarily reflect those of the CRDF

References

1. Kelly G. S. *Rhodiola rosea*: A Possible Plant Adaptogen // Altern. Med. Rev. — 2001. — N 3. — P. 293–302.
2. Saratikov A. S., Crasnov E. A. *Rhodiola rosea* is a Valuable Medicinal Plant. Tomsk State University. — 1987. — 254 pp. (in Russian).
3. Dascalu A., Gang D., Calugaru T., Malinoc A., Toma S. *Rhodiola rosea* L. a valuable medicinal plant: problems of introduction // Advanced Biological Technologies and their Impact on Economy, Proceedings of the Symposium; Chisinau. — 2005. — P. 112–117.
4. Kurkin A. V. *Zapesocnaia* G. G. Flavonoids of *Rhodiola rosea* rhizomes // Chimia Priridnih Soedinenii. — 1983. — N 1. — P. 23–32 (in Russian)
5. Kirianov A. A., Bondarenko L. T., Kurkin A. V. *Zapesocnaia*, G. G., Dubicev A. A., Vorontsov E. D. Determination of biological active compounds in rhizomes of *Rhodiola rosea* // Chimia Priridnih Soedinenii. — 1991. — N 3. — P. 320–323 (in Russian).
6. Rohloff J. Volatiles from rhizomes of *Rhodiola rosea* L. // Phytochemistry, 1002. — Vol. 59. — N 6. — P. 655–661.

Rhodiola rosea L. is well known plant, which have been used medicinally for decades, but study of it pharmacological effects and the compounds responsible for it use still continues. We present the data about variation the content of secondary metabolites in rhizome of *R. rosea* of Carpathian origin, *in vivo* and *in vitro* multiplication, and selection of valuable genotypes for future cultivation in artificial conditions.

Rhodiola rosea L. является хорошо известным растением, которое на протяжении десятилетий используются в медицине, но изучение его фармакологических эффектов и накопления физиологически активных соединений еще продолжается. Приведены данные о вариациях содержания вторичных метаболитов в корневище *R. rosea* карпатского происхождения, размножения растения *in vivo* и *in vitro* и отбора ценных генотипов для выращивания растения в искусственных условиях.

Rhodiola rosea L. добре відома рослина, що використовуються в медицині впродовж десятиліть, але вивчення її фармакологічних ефектів та накопичення фізіологічно активних сполук все ще триває. Наведено дані про зміну вмісту вторинних метаболітів у корневищі *R. rosea* карпатського походження, розмноження *in vivo* и *in vitro* та про відбір цінних генотипів для вирощування в штучних умовах.

HETEROSIS-LIKE EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS POST-ACTION

Over the past 15 years, much attention has been paid to isolate from eukaryotic cells the small regulatory RNAs and to determine their biological role in RNA interference (RNAi) that is now a term referring to post-transcriptional gene silencing (PTGS) phenomena in plants and animals, and to quelling in fungi [1]. Gene silencing was first demonstrated for *C. elegans* and the underlying mechanism of RNAi has subsequently been studied in depth for this free-living nematode. The impact of this work was recognized in 2006 by the award of the Nobel Prize in Physiology and Medicine to Andrew Fire and Craig Mello [2]. Gene silencing mediated by either degradation or translation arrest of target RNA has role in adaptive protection against viruses, in genome defense against mobile DNA elements and in developmental regulation of gene expression. These silencing systems involve processing of two type small regulatory RNAs: microRNA (miRNA) and short interfering RNA (siRNA) [1]. The si/miRNA of ~21–24-nt are generated from longer double-stranded RNA (dsRNA) precursors by two rounds of endoribonuclease cleavage by RNase III-like enzyme named Dicer into short interfering siRNA and into micro-ribonucleoproteins (miRNPs) [1–4].

The si/miRNA along with the anti-sense complementary structure to mRNA functions in a dual role [3, 4]. The roles are: 1) together with site-specific multi-subunit RNase, referred to as RNA-induced silencing complex (RISC), si/miRNA determines an age period of each mRNA molecule by destroying aberrant and defective mRNA structures that can appear faultily in the cells by specifically mRNA degradation (cleavage) or their translation arrest (silencing) and 2) si/miRNA provides protection against pathogens and parasites. In both cases, these biological effects are achieved through specifically binding si/miRNA to complementary sequences of target their own cell mRNA, pathogenic virus mRNA or parasite mRNA.

With respect to protection against pathogens and parasites, the number of si/miRNA molecules produced in plant cells against these antagonists in response to a mass infection is not sufficient to provide effective protection. There are two approaches to increase the number of si/miRNA in response to pathogen or parasite attacks [3–6]. These are either to put a number of additional si/miRNA genes in cells through genetic transformation or to activate the expression of si/miRNA synthesis cellular genes themselves by certain specific inducers.

Recently, in laboratory and field studies, we found that the plant growth regulators (PGRs) significantly increased plant resistance to viruses, nematodes and insect herbivores [7]. Thus the aim of present work is discovering and

studying the molecular-genetic mechanisms of enhancement by PGRs — Biolan, Regoplant and Stimpo (created in the State enterprise «Interdepartmental Scientific and Technological Centre Agrobiotech» of NAS and MES of Ukraine) of *Cicer arietinum* L. and wheat plant immune-protective properties and resistance to wreckers and pathogens.

Materials and methods

In our experiments the positive or negative consequences were studied of the first generation of plants, treated by growth regulators Biolan, Regoplant and Stimpo on infectious background, on growth and molecular-genetic indexes of next generation of plants that were grown already without growth regulators and without infectious background (thus the consequences post-action of growth regulators as immunomodulators were studied). In these investigations the 2 sorts of wheat and *Cicer arietinum* plants were used, the seeds of these plants were kindly passed by PhD, Deputy Director on scientific work O. V. Babayants from Selection and Genetic Institute — National Centre of Seed-growing and Variety Study (Odessa, Ukraine).

The plant seeds were germinated in Petri-dishes on the filter paper moistened by distilled water. The speed of seed germination was determined, and also integral indexes of growth and development of seedlings and molecular-genetic indexes — % homology of basic constituents of plant immune system — si/miRNA of plants (that were grown from seeds indicated plants of the first generation) to mRNA of control seedlings (which were grown from the seed of plants the first generation, that were not treated by growth regulators, but developed on an infectious background). The small regulatory si/miRNAs were isolated from plants by our elaborated originated method [8].

Results and discussions

According to integral indexes of seed germination speed and growth of both sorts wheat plant seedlings, obtained from the seeds of plants, infected by pathogenic micromycete *Fusarium graminearum*, and *Cicer arietinum* L. plant seedlings, obtained from the seeds of plants, infected by pathogenic micromycete *Fusarium oxysporum* *Ciceriae*, that were treated by the growth regulators Biolan, Regoplant and Stimpo, passed ahead sharply a growth and development of the control seedlings, obtained from the seeds of plants that were grown without regulators on an infectious background (see Fig. 1 and Fig. 2). Already, starting from the 5th day to 7th day from the beginning of germination the growth indexes of the experimental seedlings exceeded on the average in three and more times indexes of control seedlings.

For visual demonstration the typical sizes of experimental and control *Cicer arietinum* L. seedlings, taken from Petri-dishes C and A (Fig. 2) accordingly, are shown on the Fig. 3.

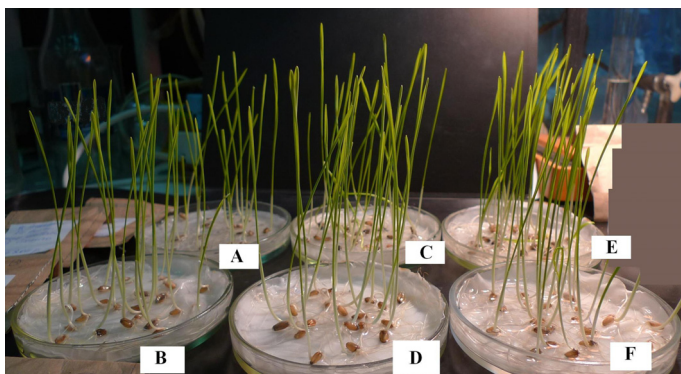


Fig. 1. The 7th-day seedlings of wheat plants (Sort «Lastivka»):
A, B — seedlings, obtained from seeds of plants, untreated growth regulators (control);
C, D — seedlings, obtained from seeds of plants, treated by Stimpo;
E, F — seedlings, obtained from seeds of plants, treated by Regoplant

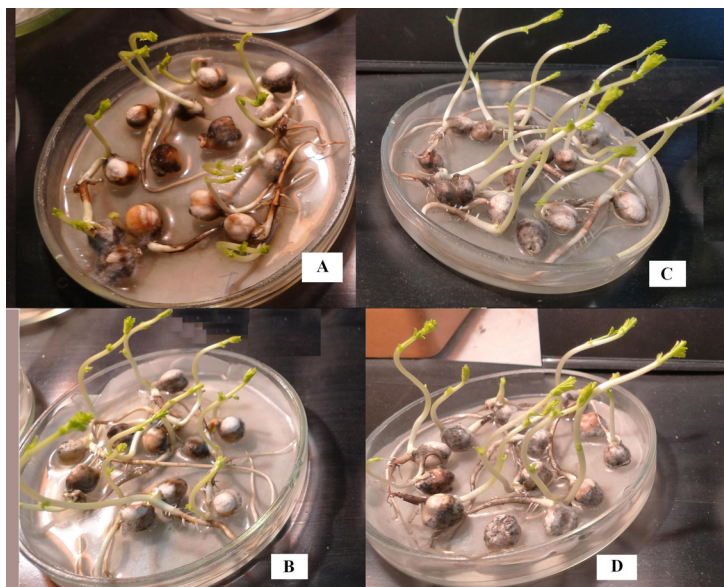


Fig. 2. The 7th-day seedlings of *Cicer arietinum* L. plants (Sort «Triumph»):
A — seedlings, obtained from seeds of plants, untreated growth regulators (control);
B — seedlings, obtained from seeds of plants, treated by Stimpo;
C — seedlings, obtained from seeds of plants, treated by Regoplant;
D — seedlings, obtained from seeds of plants, treated by Biolan

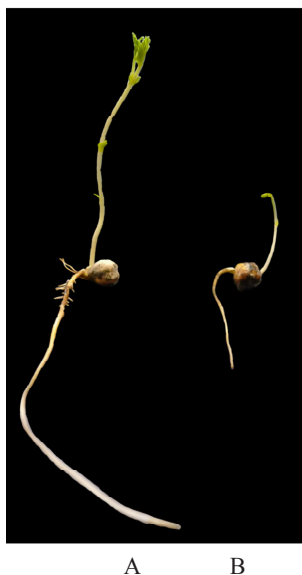


Fig. 3. The comparative sizes of 7th day seedlings *Cicer arietinum* L., obtained from seeds plants, treated (A) and untreated (B) in the process of vegetation by growth regulator Regoplant on infectious background (*Fusarium oxysporum Ciceriae*)

It testifies about increasing viability of new generation of plants by the growth regulators and about high biological potency of seed obtained from *Cicer arietinum* L. and wheat plants, which were treated by the growth regulators, without regard to that the plants of first generation grown on an infectious background.

The explanation of this difference on growth indexes between control and experimental plants can be results of molecular-biological experiments that are presented in a table.

Firstly, it is possible to see of sort differences in the effects of post-action of different growth regulators at genetic level, namely, the percent homology of si/miRNA to mRNA of control plants, secondly, that in all variants of experiments the population composition of si/miRNA considerably differs from composition of control seedlings.

It specifies that at experimental plants during the embryogenesis process of seed embryos the more optimal conditions under growth regulators' action not only due to laying of optimal amount (and it is possible more quality) of nutritive but also due to reprogramming the genome of seed embryos (maybe through the way of switching one adaptation genes on others in gene families).

Analogical supervisions are obtained and at the wheat sorts both for the differences of growth indexes between experience and control and for the

Table

The percents of hybridization levels determined by the DOT-blot method — the «point» hybridization of si/miRNA with mRNA accordingly from the control wheat and *Cicer arietinum* L. plants, that were growing from seeds, obtained from plants of previous generation, which were untreated (control) and treated (experience) by growth regulators in the process of plant vegetation on infectious background (the wheat and *Cicer arietinum* L. plants, infected by pathogenic micromycetes *Fusarium graminearum* and *Fusarium oxysporum* *Ciceriae*, accordingly)

№ п/п	Plant sorts and growth regulators					
1	Sorts of wheat plants					
	Sort «Lastivka» (variants of experiments)			Sort «Princess Olga» (variants of experiments)		
	Control (si/mi RNA and mRNA from control plants)	Treat-ment by prepa-ration Rego-plant	Treat-ment by prepa-ration Stimpō	Control (si/mi RNA and mRNA from control plants)	Treat-ment by prepa-ration Rego-plant	Treat-ment by prepa-ration Stimpō
	98 ± 1,4	82 ± 1,6* (~16%)	86 ± 1,2* (~12%)	98 ± 1,6	84 ± 1,4* (~14%)	88 ± 0,96* (~10%)
2	Sorts of <i>Cicer arietinum</i> L. plants					
	Sort «Rosanna» (variants of experiments)			Sort «Triumph» (variants of experiments)		
	Control (si/mi RNA and mRNA from control plants)	Treat-ment by prepa-ration Bio-lan	Treat-ment by prepa-ration Rego-plant	Control (si/mi RNA and mRNA from control plants)	Treat-ment by prepa-ration Rego-plant	Treat-ment by prepa-ration Stimpō
	98 ± 1,2	86 ± 1,6* (~12%)	78 ± 1,4* (~20%)	98 ± 1,4	82 ± 1,8* (~16%)	80 ± 1,6* (~18%)
			88 ± 0,98* (~10%)			76 ± 2,42* (~22%)

Note: Results from 3th experiments (n=3); *reliable differences P<0,05.

molecular-genetic indexes of homology percent of si/miRNA between experience and control, although it should be noted that at the wheat plants these differences show up in a less degree, than at *Cicer arietinum* L. plants.

Conclusions

1) It is shown that the seedlings obtained from the seed of wheat and *Cicer arietinum* L. plants, which in the process of vegetation were treated by the growth regulators Biolan, Regoplant and Stimpō on infectious background, due to integral indexes of germination, growth and development show high viability comparatively with control seedlings (obtained from the seed of the infected plants that were not treated by the growth regulators).

2) The indexes of molecular-genetic analysis (the percent of si/miRNA homology of experimental plants to mRNA of control plants) testify that at

embryogenesis in the process of forming of plant seeds there is observed reprogramming genome of plant seed embryos through the way of switching on genes in gene families of the same functional setting, but specific in relation to concrete physiology conditions that are formed under growth regulators action.

References

1. *Aravin A., Tuschl T.* Identification and characterization of small RNAs involved in RNA silencing // *FEBS Letters*. — 2005. — V. 579. — P. 5830–5840.
2. *Fuller V.L., Lilley C.J., Urwin P.E.* Nematode resistance // *New Phytologist*. — 2008. — V. 180. — P. 27–44.
3. *Gheysen G., Vanholme B.* RNAi from plants to nematodes // *Trends in Biotechnology*. — 2006. — V. 25, № 3. — P. 89–92.
4. *Knox D.P., Geldhof P., Visser A., Britton C.* RNA interference in parasitic nematodes of animals: a reality check? // *Trends in Parasitology*. — 2007. — V. 23, № 3. — P. 105–107.
5. *Padmanabhan Ch., Zhang X., Jin H.* Host small RNAs are big contributors to plant innate immunity // *Current Opinion in Plant Biology*. — 2009. — V.12. — P. 465–472.
6. *Fairbairn D.J., Cavallaro A.S., Bernard M., Mahalinga-Iyer J., Graham M.W., Botella J.R.* Host-delivered RNAi: an effective strategy to silence genes in plant parasitic nematodes // *Planta*. — 2007. — V. 226. — P. 1525–1533.
7. *Tsygankova V.A., Galkin A.P., Galkina L.A., Musatenko L.I., Ponomarenko S.P., Iutynska H.O.* Gene expression under regulators' stimulation of plant growth and development. — In the 3rd Chapter of the Monograph «New plant growth regulators: basic research and technologies of application» / Editors: S. P. Ponomarenko, H. O. Iutynska. — Kyiv: Nichlava, 2011. — 211 p.
8. *Tsygankova V.A., Andrushevich Ya.V., Blume Ya.B.* Isolation from plant cells the small regulatory si/miRNA with antinematode activity // *Dop. NAS of Ukraine*. — 2011. — № 9. — P. 159–164.

ГЕНЕТИКА І СЕЛЕКЦІЯ РОСЛИН

АНДРЮШЕНКОВА З. П.

НОВЫЕ СОРТА И ГИБРИДНЫЕ ФОРМЫ МЕЛКОЦВЕТКОВОЙ
ХРИЗАНТЕМЫ НИКИТСКОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА. 3

АРХИПОВА И. Н., СОРОКОПУДОВА О. А.

СОЗДАНИЕ ГЕНОФОНДА ГИППЕАСТРУМОВ В БЕЛГОРОДЕ. 8

БАЗАЛІЙ В. В., БОЙЧУК І. В., БАБЕНКО С. М.

СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ
ОЗИМОЇ ЗА ПРОЯВОМ ОЗНАК У F_1 І F_2 ГІБРИДІВ ДІАЛЕЛЬНИХ
СХРЕЩУВАНЬ 12

БАСКАКОВА В. Л.

СЕЛЕКЦИЯ ГРУШИ НА ПОЗДНИЙ СРОК СОЗРЕВАНИЯ ПЛОДОВ 17

БАТУРИН С. О.

НАСЛЕДОВАНИЕ РЕМОНТАНТНОСТИ В СИБИРСКИХ ПОПУЛЯЦИЯХ
FRAGARIA VESCA L. 22

БАШКІРОВА Н. В.

СЕЛЕКЦІЙНА ЦІННІСТЬ ІНБРЕДНИХ ЛІНІЙ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ. 27

ВІЛЬЧИНСЬКА Л. А.

НОВІ СОРТИ ГРЕЧКИ — МАЛИНКА, КВІТНЕВА ТА ПЕРЛИНА
ПОДІЛЛЯ 32

ВИРОВЕЦЬ В. Г., ЛАЙКО І. М., ЩЕРБАНЬ І. І., СИТНИК В. П.,

КИРИЧЕНКО Г. І., ГОРШКОВА Л. М.

ПРІОРИТЕТ УКРАЇНСЬКИХ ВЧЕНИХ В СЕЛЕКЦІЇ НЕНАРКОТИЧНИХ
КОНОПЕЛЬ 37

ВОЖЕГОВА Р. А.

СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ СТІЙКІСТІ РИСУ
ДО ПРИКУЛЯРІОЗУ 45

ВОЛЫНКИН В. А., ОЛЕЙНИКОВ Н. П., ЛИХОВСКОЙ В. В.

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ НАСЛЕДОВАНИЯ ТИПА
ЦВЕТКА ПРИ СЕЛЕКЦИИ КРУПНОЯГОДНЫХ СТОЛОВЫХ СОРТОВ
ВИНОГРАДА 50

ДУБОВЕЦ Н. И., СЫЧЕВА Е. А., СОЛОВЕЙ Л. А., ШТЫК Т. И.,

БОНДАРЕВИЧ Е. Б.

СОЗДАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ХРОМОСОМНО-ЗАМЕЩЕННЫХ ЛИНИЙ
ГЕКСАПЛОИДНЫХ ТРИТИКАЛЕ И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
В ПРАКТИЧЕСКОЙ СЕЛЕКЦИИ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЯХ 55

ЗАХАРОВА В. О., ГЕРАСЬКО Т. В., ХІЛЬКО В. Т., ЗАХАРОВ М. В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИЙ МУТАГЕНЕЗ В СЕЛЕКЦІЇ ЯБЛУНІ	60
ЗАХАРОВА Е. В., НЕДЕЛЬКО А. В., ТИМОФЕЕВА Г. В., КОВАЛЕВА Л. В. ГАМЕТОФИТНАЯ САМОНЕСОВМЕСТИМОСТЬ: ПРИЗНАКИ ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ СМЕРТИ И ДИНАМИКА ЭТИЛЕНА В ПЕСТИКАХ ПЕТУНИИ ПОСЛЕ САМОНЕСОВМЕСТИМОГО ОПЫЛЕНИЯ	65
КАРЕЛОВ А. В., ПИРКО Я. В., КОЗУБ Н. А., СОЗИНОВ И. А., ПИРКО Н. Н., КОЛЮЧИЙ В. Т., БЛЮМ Я. Б., СОЗИНОВ А. А. АНАЛИЗ ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНОВ <i>SR2</i> И <i>SRCAD</i> В СОРТАХ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ МИРОНОВСКОЙ СЕЛЕКЦИИ	69
КАТЕРИНЧУК О. М., ЧУГУНКОВА Т. В. РІСТ І РОЗВИТОК РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ПЕРШОГО МУТАНТНОГО ПОКОЛІННЯ ЗА ДІЇ ХІРАЛЬНИХ МУТАГЕНІВ	74
КИРИКОВИЧ С. С., ЛЕВИТЕС Е. В. ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕТОД ВЫЯВЛЕНИЯ АГАМОСПЕРМИИ У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (<i>BETA VULGARIS</i> L.)	80
КОВАЛИШИНА Г. М., САБАДИН В. Я., МУХА Т. І., МУРАШКО Л. А. ДОНОРИ СТІЙКОСТІ ПРОТИ ОСНОВНИХ ЗБУДНИКІВ ХВОРОБ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ТА ЯРОГО ЯЧМЕНЮ В ПРАВОБЕРЕЖНОМУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ	85
КОЗАЧЕНКО М. Р. СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ТА СТВОРЕННЯ НОВИХ ФОРМ ЯЧМЕНЮ ВАКСІ	91
КОЗЛОВ Н. Н., ТРУХАН В. А. СЕЛЕКЦИЯ КОРМОВЫХ РАСТЕНИЙ В ИЗМЕНЯЮЩИХСЯ УСЛОВИЯХ ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ	96
КОМАХИН Р. А., МИЛЮКОВА Н. А., КОМАХИНА В. В., КРИНИЦЫНА А. А., ЛЕВИНА Т. А., ЖУЧЕНКО А. А. НАСЛЕДОВАНИЕ ГЕНОВ МЕЙОЗ-СПЕЦИФИЧНЫХ ЭНДОНУКЛЕАЗ <i>SPO11</i> <i>SACCHAROMYCES CEREVISIAE</i> И <i>SPO11-1</i> <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> В ПОТОМСТВЕ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТОМАТА	101
КОРНЄСВА М. О., НЕНЬКА О. В., НЕНЬКА М. М. ГЕНЕТИЧНИЙ КОНТРОЛЬ СХОЖОСТІ НАСІННЯ ГІБРИДІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ, СТВОРЕНИХ ЗА УЧАСТЮ ЗАПИЛЮВАЧІВ РІЗНОГО ПОХОДЖЕННЯ	106
КОЧМАРСЬКИЙ В. С., КИРИЛЕНКО В. В., КОЛОМІЄЦЬ Л. А., ГУМЕНЮК О. В., ДЕРГАЧОВ О. Л., ХАРЧЕНКО А. В. МЕТОДИЧНІ ПІДХОДИ КОМПЛЕКСНОЇ РАННЬОЇ ДІАГНОСТИКИ ПОСУХО- ТА ЖАРОСТІЙКОСТІ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ	111

КРАВЧЕНКО В. П.

РОЗПОДІЛ ОЗНАКИ ТЕРПКІСТЬ — НЕТЕРПКІСТЬ В РІЗНИХ
ТИПАХ ПЛОДІВ ХУРМИ СХІДНОЇ ТА УСПАДКУВАННЯ
ГІБРИДАМИ З ХУРМОЮ ВІРГІНСЬКОЮ 117

КРУГЛЕНЯ В. П.

ВЫЯВЛЕНИЕ РОЛИ ЦИТОПЛАЗМЫ РЖИ В СИСТЕМНЫХ СКРЕЩИВАНИЯХ
ТРИТИКАЛЕ И СЕКАЛОТРИТИКУМ 122

КУЗНЕЦОВА Л. Л.

О НАСЛЕДОВАНИИ ПРИЗНАКОВ У *FRAGARIA* × *ANANASSA*
DUCH 126

ЛАЗАРЕНКО Л. М., БЕЗРУКОВ В. Ф., ОЛЕФІРЕНКО В. В.

ПОРОГОВА КОНЦЕНТРАЦІЯ АУТОМУТАГЕНІВ
У НАСІННІ БАТУНА (*ALLIUM FISTULOSUM* L.) 131

ЛЕВИТЕС Е. В., КИРИКОВИЧ С. С.

ПОСТМЕЙОТИЧЕСКИЙ АПОЗИГОТИЧЕСКИЙ КОМБИНАТОРНЫЙ
ПРОЦЕСС У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS* L.) 136

ЛЯХ В. А., БОЙКАЯ А. А.

НАСЛЕДОВАНИЕ ТИПА РАЗВИТИЯ У МЕЖВИДОВЫХ ГИБРИДОВ
ЛУННИКА 141

МАЛЕЦКАЯ Е. И., ЮДАНОВА С. С., МАЛЕЦКИЙ С. И.

РАЗДЕЛЬНО–СРОСТНОЦВЕТКОВОСТЬ В ПОТОМСТВАХ
ГАПЛОИДНЫХ И ДИГАПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ
(*BETA VULGARIS* L.) 143

НИКОЛАЕВА А. В., КОРШИКОВ И. И.

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ МОЖЖЕВЕЛЬНИКА
ВЫСОКОГО (*JUNIPERUS EXCELSA* ВІЕВ.) В ГОРНОМ КРЫМУ 148

ОКСЬОМ В. П., ОКСЬОМ Л. Л.

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ІНДУКОВАНИХ МІКРОМУТАЦІЙ
ПРИ ПОЛІПШЕННІ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ЗА ПОКАЗНИКАМИ
ЯКОСТІ ЗЕРНА 153

ПАРТОВЕ К., МЕЛИКОВ К., НАИМОВ А., КАРИМОВ И., АЛИЕВ К.

ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ НОВЫХ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ
В УСЛОВИЯХ ТАДЖИКИСТАНА 159

ПАХОМЕЕВ О. В.

АДАПТИВНЫЙ РЕКОМБИНОГЕНЕЗ В СЕЛЕКЦИИ МЯГКОЙ
ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА ГОМЕОСТАЗ ДЛЯ УСЛОВИЙ БОГАРЫ
КЫРГЫЗСТАНА 163

СКОРИК В. В.

ГНОМ 3 — ДОНОР СУПЕРКОРОТКОСТЕБЛОВОСТІ ЖИТА ОЗИМОГО
(*SECALE CEREALE* L.) 167

СМЫКОВ А. В.

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ В СОРТОИЗУЧЕНИИ И СЕЛЕКЦИИ
ПЕРСИКА НА ЮГЕ УКРАИНЫ 172

ТЕРНОВСЬКА Т. К., ЄФІМЕНКО Т. С., АНТОНЮК М. З., МАРТИНЕНКО В. С.

ГЕНЕТИЧНИЙ КОНТРОЛЬ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК КОЛОСУ
В ІНТРОГРЕСИВНИХ ЛІНІЯХ ПШЕНИЦІ 175

УГОЛЬНИКОВА Е. В., КАШИН А. С.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ ГАМЕТОФИТНОГО АПОМИКСИСА
У ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *SALIX* L. В САРАТОВСКОЙ
ОБЛАСТИ 181

ХОМЕНКО С. О., СОЛОНА В. Й.

АДАПТИВНІСТЬ ВИХІДНОГО МАТЕРІАЛУ ПШЕНИЦІ ЯРОЇ
В УМОВАХ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ 186

ЧЕБОТАР Г. О., ЧЕБОТАР С. В., БАЛАШОВА І. А., ЩЕРБАНЬ А. Б., СИВОЛАП Ю. М.

АЛЕЛІ ГЕНА *PPD-D1* В СОРТАХ ЯРИХ ТА ОЗИМИХ ПШЕНИЦЬ
УКРАЇНИ ТА РОСІЙСЬКОЇ ФЕДЕРАЦІЇ 191

ШИХЛИНСКИЙ Г. М., МАМЕДОВА Н. Х., АКПЕРОВ А. И.

ГЕТЕРОЗИСНЫЙ ЭФФЕКТ ОИДИУМОУСТОЙЧИВОСТИ ГИБРИДОВ
ВИНОГРАДА ПЕРВОГО ПОКОЛЕНИЯ (*F1*) 196

ШПИЛЬЧИН В. В., РЬОДЕР М., БЬОРНЕР А., АНТОНЮК М. З., ТЕРНОВСЬКА Т. К.

ГЕНЕТИЧНА НЕСТАБІЛЬНІСТЬ ПОХІДНИХ *TRITICINAE* ІЗ ШТУЧНИМ
ГЕНОМОМ 201

ЮДАНОВА С. С., МАЛЕЦКАЯ Е. И., МЕЛЕНТЬЕВА С. А.

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЧИСЛА ХЛОРОПЛАСТОВ У ГИБРИДОВ F_1
САХАРНОЙ СВЕКЛЫ 206

ЯНЧУК В. І., МАМАЛИГА В. С.

МІНЛИВІСТЬ ДЕЯКИХ МОРФО-БІОЛОГІЧНИХ ОЗНАКИ ЛЮЦЕРНИ
ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК ІЗ КОРМОВОЮ ПРОДУКТИВНІСТЮ 211

ЯЦИШЕН О. Л., ТАРАНЕНКО Л. К., ПАЛЬЧУК М. Ф.

ОСОБЛИВОСТІ УСПАДКУВАННЯ ТИПІВ ТА ЧИСЛА СУЦВІТЬ
НА ПАГОНАХ ДЕТЕРМІНАНТНИХ ТА ТРАДИЦІЙНИХ ФОРМ ГРЕЧКИ
(ПОПЕРЕДНЄ ПОВІДОМЛЕННЯ) 216

ГЕНЕТИКА І СЕЛЕКЦІЯ ТВАРИН

БАРАНОВСКИЙ Д. И.

ФОРМИРОВАНИЕ АДАПТИВНЫХ ПРИЗНАКОВ ПРИ ГИБРИДИЗАЦИИ
В СВИНОВОДСТВЕ 221

БУРОВ В. О., СТЕПНЕВСЬКА Я. В., БУРОВ В. В., КОЛЬЦОВА О. Г., СМЕТАНІН В. Т. ВПЛИВ РІЗНИХ ГОРМОНІВ НА БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ СПЕРМИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА	224
ВАСИЛЬЕВ В. С., ХОХЛОВ А. М., ВАСИЛЬЕВА О. В. КОЛИЧЕСТВО ДНК В СПЕРМИЯХ БЫКОВ И ОПЛОДОТВОРЯЕМОСТЬ КОРОВ	228
ГОРАЙЧУК И. В., СОЛОДЯНКИН А. С., ГЕРИЛОВИЧ А. П. РАЗРАБОТКА РЕКОМБИНАНТНОГО ПОЛОЖИТЕЛЬНОГО КОНТРОЛЬНОГО ОБРАЗЦА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ РНК ВИРУСА ДИАРЕИ КРС С ПОМОЩЬЮ ПЦР.	233
ЕМЕЦ З. В., МАМЕНКО А. М. ВЛИЯНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ МОЛОКА КОРОВ.	236
ИШМУРАТОВА Н. М., ИШМУРАТОВ Г. Ю., ТАМБОВЦЕВ К. А., ТОЛСТИКОВ Г. А. НЕИЗВЕСТНАЯ ФУНКЦИЯ ПЧЕЛИНОЙ МАТКИ В ГНЕЗДЕ	240
КОСТЕНКО С. А., КОНОВАЛ О. Н., СИДОРЕНКО Е. В., КАМЫШ Н. А., МИХАЙЛОВА М. Е. СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ СВИНЕЙ УКРАИНЫ И БЕЛАРУСИ ПО ГЕНУ РЕЦЕПТОРА ЭСТРОГЕНА (<i>ESR</i>)	244
МИХАЙЛОВА М. Е., ТИХАНОВИЧ Н. И., БЕЛАЯ Е. В., ВОЛЧОК Н. М. АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА (<i>CSN3</i>) И СВЯЗЬ ЕГО АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ С ПОКАЗАТЕЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ.	249
ПОЛЬСЬКА П. І., КАЛАЩУК Г. П. МЕТОДОЛОГІЯ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІПШЕННЯ АСКАНІЙСЬКОЇ М'ЯСО-ВОВНОВОЇ ПОРОДИ ОВЕЦЬ З КРОСБРЕДНОЮ ВОВНОЮ	253
СЫРОВНЕВ Г. И., КУНЕВА Л. В., СМЕТАНІН В. Т. ПОВЫШЕНИЕ ПРОДУКТИВНОСТИ И СОХРАННОСТИ ПРОРОСЯТ В ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИНБРЕДНЫХ ХРЯКОВ СЕЛЕКЦИИ ДНЕПРОПЕТРОВСКОГО СХИ	258
САМЧУК В. А., СТЕКЛЕНЬОВ Є. П. МІНЛИВІСТЬ МОРФОМЕТРИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ СИЧУГА У ГІБРИДІВ В ПІДРОДИНІ <i>BOVINAЕ</i>	262
ХОХЛОВ А. М. ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ ПРИ ДОМЕСТИКАЦИИ СВИНЕЙ.	267

ГЕНЕТИКА ЛЮДИНИ ТА МЕДИЧНА ГЕНЕТИКА

БАГАЦКАЯ Н. В., НЕФИДОВА В. Е., МЕДЗЯНОВСКАЯ Е. В.

ОЦЕНКА СПОНТАННОГО И ИНДУЦИРОВАННОГО МУТАГЕНЕЗА
В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ
С ЮВЕНИЛЬНЫМ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ272

БЛЕВИЧ О. Б.

РОЛЬ МУТАЦИЙ ГЕНА HFE У РОЗВИТКУ ІДІОПАТИЧНИХ
ГЕПАТОБІЛІАРНИХ ПОРУШЕНЬ В АСОЦІАЦІЇ
З АЛЕЛЯМИ А- ТА В-ЛОКУСІВ HLA І КЛАСУ277

**БИЧКОВА Г. М., РИБЧЕНКО Л. А., СКИБАН Г. В., ТИМШИНА А. М.,
ЯРОШЕНКО Н. С., КЛИМЕНКО С. В.**

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ АЛГОРИТМІВ РОЗРАХУНКУ РИЗИКІВ
НОСІЙСТВА МУТАЦІЙ У ГЕНАХ BRCA1 ТА BRCA2 У ЖІНОК282

**БОДНАР І. В., ЩЕРБАКОВ С. М., ДУМІН Х. Я.,
ГОРБУЛІНСЬКА С. М., БОДНАР Л. С.**

АРОМАТИЗАТОРИ ХАРЧОВОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ ЯК ІНДУКТОРИ
ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЙ У *ALLIUM CEPA* ТА *MUS MUSKULUS*286

**ВАГИНА И. Н., АНОПРИЕНКО О. В., ЗАХАРУК Е. А.,
МОРОЗОВА Л. М., СТРОКОВСКАЯ Л. И.**

ИНГИБИРОВАНИЕ РОСТА МЫШИНОЙ МЕЛАНОМЫ ФЕТАЛЬНЫМИ
ФИБРОБЛАСТАМИ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИМИ IFN-В *IN VIVO*291

ГЕНИК-БЕРЕЗОВСЬКА С. О.

АНАЛІЗ ФАКТОРІВ РИЗИКУ ДО НАРОДЖЕННЯ ДІТЕЙ
З «МОДЕЛЬНИМИ» ПРИРОДЖЕНИМИ ВАДАМИ РОЗВИТКУ
У ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ЗА ДАНИМИ КАТАМНЕСТИЧНОГО
СПОСТЕРЕЖЕННЯ298

ГОНТАРЬ Ю. В., ЧАПЛЯ О. В., ИЛЬИН И. Е.

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА СПЕРМАТОЗОИДОВ
ПАЦИЕНТОВ, ВСТУПАЮЩИХ В ПРОГРАММУ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ
РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ (ВРТ) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ (ПГД)304

КІЦЕРА Н. І, ШПАРИК Я. В., ГЕЛЬНЕР Н. В.

ЧАСТОТА ВАД СЕРЦЯ В РОДИНАХ ІЗ СІМЕЙНИМ РАКОМ МОЛОЧНОЇ
ЗАЛОЗИ309

**КУШНІРУК В. О., КОЧУБЕЙ Т. П., МАЦЕВИЧ Л. Л., РУБАН Т. П.,
ЛУКАШ Л. Л.**

ДОСЛІДЖЕННЯ КАРІОТИПУ НОВОЇ ЛІНІЇ КЛІТИН ЛЮДИНИ 4BL6 ПРИ
ТРИВАЛОМУ КУЛЬТИВУВАННІ *IN VITRO*313

ЛЕВЕНЕЦ С. А., НАЧЕТОВА Т. А., КУЛЕШОВА Д. К.

ОСОБЕННОСТИ ПЕРИНАТАЛЬНОГО И СЕМЕЙНОГО АНАМНЕЗА
ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ С ВТОРИЧНОЙ АМЕНОРЕЕЙ.318

ЛИХАЧЕВА Л. И., РУБАН Т. А., ШПИЛЕВАЯ С. П., ШУВАЛОВА Н., КОРДЮМ В. А., ГУЛЬКО Т. П. ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ КЛЕТОК ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА С МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ ПУПОВИНЫ ЧЕЛОВЕКА РАЗНЫХ ПАССАЖЕЙ	321
ЛОЗИНСЬКА М. Р., ПЛАВСЬКА А., ЛОЗИНСЬКИЙ Ю. С. ВИВЧЕННЯ СПАДКОВИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ТОВСТОЇ КИШКИ З ВИСОКИМ СТУПЕНЕМ ПЕНЕТРАНТНОСТІ ТА РИЗИКОМ ВИНИКНЕННЯ КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКУ	327
МОССЭ И. Б., ГОНЧАР А. Л., ЖУР К. В., КУНДАС Л. А., БЫШНЁВ Н. И. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТИ К РАЗНЫМ ВИДАМ СПОРТА	332
НЕУМЕРЖИЦЬКА Л. В., ШКАРУПА В. Н., КЛИМЕНКО С. В. ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ЧАСТОТИ ХРОМОСОМНИХ АБЕРАЦІЙ В ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ХВОРИХ НА РАК ЦИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ	337
ПАПУГА А. П., ЛУКАШ Л. Л. СОВРЕМЕННЫЕ ДЕРМО-ЭПИДЕРМАЛЬНЫЕ КОЖНЫЕ ЭКВИВАЛЕНТЫ	342
ПІДПАЛА О. В., ЯЦИШИНА А. П., ЛУКАШ Л. Л. РОЗПОВСЮДЖЕННЯ МУТАЦІЇ А2706 А У МІТОХОНДРІАЛЬНИЙ ДНК ЛЮДИНИ СЕРЕД НОСІЇВ МАКРОГРУПИ L	347
ПЛІНСЬКА М. А., ДИБСЬКИЙ С. С., ДИБСЬКА О. Б., ШВАЙКО Л. І. РАДІАЦІЙНО-ІНДУКОВАНА МОДИФІКАЦІЯ ЧУТЛИВОСТІ ХРОМОСОМ СОМАТИЧНИХ КЛІТИН ХВОРИХ НА РАК ЛЕГЕНІВ ДО ТЕСТУЮЧОЇ МУТАГЕННОЇ ДІЇ БЛЕОМІЦИНУ <i>IN VITRO</i>	352
ПОХОЛЕНКО Я. О., РАЧКОВА Л. Т., ГУЛЬКО Т. П., ШПИЛЕВАЯ С. П., РУБАН Т. А., КОРДЮМ В. А. СОЗДАНИЕ БИОДЕГРАДАБЕЛЬНЫХ МАТРИКСОВ ИЗ КОЛЛАГЕНА I ТИПА И ИЗУЧЕНИЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ <i>IN VITRO И IN VIVO</i>	358
СЄДНЄВА І. А., ГУЛЕЮК Н. Л., БЕЗКОРОВАЙНА Г. М., ТКАЧ І. Р. ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ МАТЕРІАЛУ ВТРАЧЕНИХ ВАГІТНОСТЕЙ У ЗАХІДНОМУ РЕГІОНІ УКРАЇНИ	362
СТЕФАНОВИЧ Г. В., КЛИМЕНКО С. В., МЕХЕДА Л. В., БУДЕРАЦЬКА Н. О. МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОКАЗНИКИ СПЕРМАТОГЕНЕЗУ У ЧОЛОВІКІВ, ЩО ПРОЖИВАЮТЬ НА РАДІАЦІЙНО ЗАБРУДНЕНИХ ТЕРИТОРІЯХ, ТА КУРЦІВ	367
СУХОРАДА Е. М., КОЛОМИЕЦ Ю. Н., БОШИЦКАЯ Н. А., УВАРОВА И. В., ГРИПІЧ О. А., ЛУКАШ Л. Л. ИССЛЕДОВАНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОДИСПЕРСНЫХ ПОРОШКОВ ЖЕЛЕЗА НА КЛЕТКИ ЧЕЛОВЕКА	372

ТАЛАН О.О.

РІВЕНЬ СПОНТАННИХ ТА ІНДУКОВАНИХ *IN VITRO* АБЕРАЦІЙ
ХРОМОСОМ У ОСІБ ЛІТНЬОГО ВІКУ376

ТЕРПИЛЯК О.І., ЗАСТАВНА Д.В., СОСНІНА К.О., ГЕЛЬНЕР Н.В., СЄДНЄВА І.А.

АНАЛІЗ РЕЗУЛЬТАТІВ HLA-ГЕНОТИПУВАННЯ ПРИ РАННІХ
РЕПРОДУКТИВНИХ ВТРАТАХ У ЛЮДИНИ380

ТИРКУС М.Я., МАКУХ Г.В., АКОПЯН Г.Р., ДМИТРУК І.М.

ВИСОКА ЧАСТОТА МУТАЦІЙ CCR5DEL32 ГЕНА ХІМОКІНОВОГО
РЕЦЕПТОРА CCR5 СЕРЕД ЖИТЕЛІВ ЗАХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ386

ТЮТЮННИКОВА А.П., ЛИСЕЦЬКА Т.Ю., ГУР'ЯНОВ Д.С., КРАВЧУК І.В., ТЕЛЕГЕСЬВ Г.Д.

БІЛКИ, ЩО ВЗАЄМОДІЮТЬ З РН ДОМЕНОМ BCR-ABL, ТА ЇХНЯ
РОЛЬ У ФОРМУВАННІ ПУХЛИННОГО ФЕНОТИПУ ПРИ РОЗВИТКУ
МІЄЛОПРОЛІФЕРАТИВНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ390

ФЕДОТА А.М., СОЛОДЯНКИН А.С., РЫЖКО П.П., ВОРОНЦОВ В.М., РОЩЕНЮК Л.В.

ПОПУЛЯЦИОННЫЙ АНАЛИЗ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМОВ
G1691A ГЕНА FV И G20210A ГЕНА FII У БОЛЬНЫХ ПСОРИАЗОМ394

ЧЕРЕДНИК Ю.О., АНОПРІЄНКО О.В., ГОРОВЕНКО Н.Г., ФЕЩЕНКО Ю.І.

ПРОБЛЕМИ КОМПЛЕКСНОЇ ЛАБОРАТОРНОЇ ПЛР-ДІАГНОСТИКИ І
ГЕНОТИПУВАННЯ ШТАМІВ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*
В УКРАЇНІ398

GHALI Z. H., AHMED I. H., GORSHUNSKA M. YU., POCHERNYAEV A. K., ATRAMENTOVA L. A.

SNP OF *CRP* GENE AND RISK OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS
IN UKRAINIAN POPULATION404

АНАЛІЗ І ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ

АРАЛОВ В.І.

ВИКОРИСТАННЯ ТРАНСГРЕСІЙ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК
ПРОДУКТИВНОСТІ В СЕЛЕКЦІЇ ГОРОШКУ ПОСІВНОГО (ВИКИ ЯРОЇ) ...408

БУРДЕНЮК-ТАРАСЕВИЧ Л.А.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОЛЛЕКЦИИ ЧЕРНОБЫЛЬСКИХ
РАДИОМУТАНТОВ В КАЧЕСТВЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ
ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ412

ВЕРЖУК В.Г., ПАВЛОВ А.В., ТИХОНОВА О.А., НОВИКОВА Л.Ю.

ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ГЕНОПЛАЗМЫ ЧЕРНОЙ СМОРОДИНЫ
(*RIBES NIGRUM* L.) ОБРАБОТАННОЙ КРИОПРОТЕКТОРАМИ
И БЕЗ НИХ ПОСЛЕ ХРАНЕНИЯ В ПАРАХ ЖИДКОГО АЗОТА417

ВИРЫЧ П. А., МАКОВЕЙЧУК Т. И., ШВАРТАУ В. В. ВЛИЯНИЕ ТРИНЕКСАПАК-ЭТИЛА НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ СВОБОДНОГО ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКОГО КАЛЬЦИЯ В ИНТАКТНЫХ КОРНЯХ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ.	422
ВОЛКОВА Н. Е. ДНК-ШТРИХКОДУВАННЯ ВИДІВ ТВАРИН І РОСЛИН (ОГЛЯД).	426
ГУРАЛЬЧУК Ж. З. ДІЯ ГЕРБИЦИДІВ НА ВМІСТ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У КУЛЬТУРНИХ РОСЛИНАХ.	431
ЖУК В. В., МУСІЄНКО М. М. ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ЦИТОКІНІНУ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ ЯРОЇ ПШЕНИЦІ ЗА УМОВ ПОСУХИ.	436
ЖУК І. В., ДМИТРСЬ О. П. ВПЛИВ ЕКЗОГЕННОГО ОКСИДУ АЗОТУ НА ІНДУКУВАННЯ НЕСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ ЯРОЇ ПШЕНИЦІ В ПОЛЬОВИХ УМОВАХ.	440
КІРІЗІЙ Д. А., РИЖИКОВА П. Л. СОРТОВІ ОСОБЛИВОСТІ АСИМІЛЯЦІЇ CO ₂ В ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ЗАЛЕЖНО ВІД УМОВ ОСВІТЛЕННЯ ТА МІНЕРАЛЬНОГО ЖИВЛЕННЯ.	445
КОБИЗЄВА Л. Н. ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР ЦЕНТРУ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ РОСЛИН УКРАЇНИ ДЛЯ СТВОРЕННЯ СОРТІВ РІЗНИХ ГРУП СТИГЛОСТІ.	451
КОЗУБ Н. А., СОЗИНОВ И. А., СОЗИНОВ А. А. РАЗНООБРАЗИЕ КРЫМСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ДИКОГО СОРОДИЧА ПШЕНИЦЫ <i>AEGILOPS BIUNCIALIS</i> VIS. ПО ЛОКУСАМ ЗАПАСНЫХ БЕЛКОВ.	455
КОЛОМАЦЬКА В. П., КИРИЧЕНКО В. В. ДИФФЕРЕНЦІАЦІЯ ГІБРИДІВ СОНЯШНИКУ ЗА ЕКОЛОГІЧНОЮ ПЛАСТИЧНІСТЮ В УМОВАХ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ.	460
КОРНЄЄВА М. О., МАЦУК М. Б., ЧЕМЕРИС Л. М. КОМБІНАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ ТЕТРАПЛІОЇДНИХ ЗАПИЛЮВАЧІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ БЛОЦЕРКІВСЬКОЇ ГЕНПЛАЗМИ ЗА ЕНЕРГІЄЮ ПРОРОСТАННЯ І СХОЖІСТЮ НАСІННЯ.	464
КУЗНЕЦОВА Н. Ф., МАШКИНА О. С., ПАРДАЕВА Е. Ю. МОРФОМЕТРИЧЕСКАЯ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОНТРАСТНЫХ ПО ЗАСУХОУСТОЙЧИВОСТИ ФОРМ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ.	469
ЛАЦКО Т. А. ОЦЕНКА ПОВРЕЖДЕНИЙ МОРОЗОМ ГЕНЕРАТИВНЫХ ПОЧЕК ГИБРИДОВ ПЕРСИКА F1 В СТЕПНОМ КРЫМУ.	474

МАКЛЯК К. М.

ОЦЕНКА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ВЕГЕТАЦИОННОГО ПЕРИОДА
ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА В ГОДЫ С РАЗНЫМ ТЕМПЕРАТУРНЫМ
РЕЖИМОМ478

МАЛЮЖЕНЕЦ Н. С.

ХАРАКТЕР ПРОЯВЛЕНИЯ И ИЗМЕНЧИВОСТИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ
КАЧЕСТВА КОРМА У РАЗНЫХ ВИДОВ ПОЛЕВИЦЫ483

МИТРОФАНОВА О. В., МИТРОФАНОВА И. В.,

ЛЕСНИКОВА-СЕДОШЕНКО Н. П., ШЕРСТЮК В. А., КОСТЮК А. А.
МОНИТОРИНГ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ СОСУДИСТЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В САДОВЫХ АГРОЦЕНОЗАХ488

МИХАЛЬСЬКА Л. М., ШВАРТАУ В. В.

ДОСЛІДЖЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ СУМІСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ
САПРОПЕЛІВ ТА ГЕРБИЦИДІВ У ПОСІВАХ ВИСОКОПРОДУКТИВНИХ
СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ493

МОСКАЛЕЦЬ В. І., МОСКАЛЕЦЬ В. В., МОСКАЛЕЦЬ Т. З.

ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ ТРИТИКАЛЕ ОЗИМОГО ГЕКСАПЛОЇДНОГО
РІВНЯ501

НЕНЬКО Н. И., КИСЕЛЕВА Г. К., СХАЛЯХО Т. В.

ОЦЕНКА АДАПТАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ К ЗАСУХЕ
ТЕХНИЧЕСКИХ СОРТОВ ВИНОГРАДА В АНАПО-ТАМАНСКОЙ
ЗОНЕ506

ОВЕРЧЕНКО В. В., ШУЛЬГА В. М., АНІПІОВ І. О., МЕЛЬНИЧУК М. Д.

МОЛЕКУЛЯРНО-БІОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ВІРУСІВ ХМЕЛЮ
(*HUMULUS LUPULUS* L.)510

**ОЖЕРЄДОВ С. П., СПІВАК С. І., ЛИТВИН Д. І., ШВАРТАУ В. В.,
ЄМЕЦЬ А. І.**

ПРОГРАМОВАНА КЛІТИННА ЗАГИБЕЛЬ У РОСЛИН ПІСЛЯ
ОБРОБКИ ПОХІДНИМИ 2,6-ДИНІТРОАНЛІНУ, ІНГІБІТОРАМИ
АЦЕТИЛ-КОА-КАРБОКСИЛАЗИ ТА ЇХ КОМПОЗИЦІЯМИ515

ОПАЛКО А. І., КУЧЕР Н. М., ОПАЛКО О. А.

ФІЛОГЕНЕТИЧНІ ЗВ'ЯЗКИ КУЛЬТИВОВАНИХ В УКРАЇНІ
ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *PYRUS* L. ВИКОРИСТАНИХ У СЕЛЕКЦІЇ
ГРУШІ520

**ПАРНІКОЗА І. Ю., БУБЛИК О. М., АНДРЕЄВ І. О., СПІРІДОНОВА К. В.,
ТРОЙЦЬКА Т. Б., КУНАХ В. А.**

ВПЛИВ ФРАГМЕНТАЦІЇ АРЕАЛУ НА СТАН ПОПУЛЯЦІЙ СТЕПОВИХ
КСЕРОФІТІВ УКРАЇНИ НА ПРИКЛАДІ *IRIS PUMILA* L526

ПОЛЯКОВА И. А., ЛЯХ В. А.

ОСОБЕННОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА
ХЛОРОФИЛДЕФИЦИТНЫХ МУТАНТОВ ЛЬНА МАСЛИЧНОГО530

ПРЯДКІНА Г.О., СТАСИК О.О., КОСОВЕЦЬ О.О. ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ФОТОСИНТЕТИЧНО АКТИВНОЇ РАДІАЦІЇ В ПОСІВАХ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ ЗА РІЗНОГО РІВНЯ МІНЕРАЛЬНОГО ЖИВЛЕННЯ	534
САВКИН Н.Л., ШЕЛИХОВ П.В., МАРУХА Н.Н., КАПУСТИН А.С., МАСЛОВ М.Н. АДАПТАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ГЕНОТИПОВ СОРТОВ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ В ОСЕННИЙ ПЕРИОД ВЕГЕТАЦИИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПРЕДШЕСТВЕННИКА И РОСТАКТИВИЗИРУЮЩЕГО ПРЕПАРАТА	539
САНДЕЦЬКА Н.В., МИХАЛЬСЬКА Л.М., ШВАРТАУ В.В. ВПЛИВ ПОЗАКОРЕНЕВОГО ПІДЖИВЛЕННЯ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ	544
СІГІДІНЕНКО Л.І., МЕДВІДЬ О.М. ВПЛИВ КОМПЛЕКСНИХ МІКРОДОБРИВ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ РОСЛИН <i>ARABIDOPSIS THALIANA</i> (L.) HEYNH.	548
СІЧКАР В.І., ЛАВРОВА Г.Д., ГАНЖЕЛО О.І., ХОРСУН І.А. ЗАЛЕЖНІСТЬ УРОЖАЙНОСТІ ТА ВМІСТУ БІЛКА І ОЛІЇ В НАСІННІ СОЇ ВІД КЛІМАТИЧНИХ ФАКТОРІВ НА ПІВДНІ СТЕПУ УКРАЇНИ	550
СКОРИК В.В., СИМОНЕНКО Н.В., ДАВИДЮК І.М. ГІБРИДОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ТРИГІБРИДНОГО СХРЕЩУВАННЯ ЖИТА ОЗИМОГО (<i>SECALE CEREALE</i> L.)	555
СОКОЛОВСЬКА-СЕРГІЄНКО О.Г., ПРЯДКІНА Г.О., РИЖИКОВА П.Л., ПОЛІЩУК Г.І. ГЕНОТИПІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕТВОРЕНЬ У ВІОЛАКСАНТИНОВОМУ ЦИКЛІ ТА АКТИВНОСТІ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У КОНТРАСТНИХ ЗА ЗЕРНОВОЮ ПРОДУКТИВНІСТЮ СОРТІВ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ	560
ТИМЧУК С.М., МАРТИНЮК М.М., ПОЗДНЯКОВ В.В., ТИМЧУК В.М., ХАРЧЕНКО Ю.В., ХАРЧЕНКО Л.Я. ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ОСНОВНИХ ОЗНАК ЯКОСТІ ГРАНУЛЯРНОГО КРОХМАЛЮ У ВИСОКОАМІЛОЗНОЇ КУКУРУДЗИ	565
ТКАЧОВ В.І., ГУЛЯЄВ Б.І., ЯРОШЕНКО О.А. РЕГУЛЯТОРИ РОСТУ РОСЛИН ФІТОГОРМОНАЛЬНОЇ І РЕТАРДАНТНОЇ ДІЇ В ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОЩУВАННЯ СОНЯШНИКА	569
ТРАЧ В.В. ВИВЧЕННЯ МОЖЛИВОСТІ МОДИФІКАЦІЇ ФІТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ ПІРОКСУЛАМУ	573
ТРУХАН В.А. МЕТОДЫ СОЗДАНИЯ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА КЛЕВЕРА ПОЛЗУЧЕГО (<i>TRIFOLIUM REPENS</i> L.) И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕТЕРОЗИСНЫХ ГИБРИДОВ F ₁	576

ХОДАНИЦЬКИЙ В. К., ШВАРТАУ В. В. ВПЛИВ АМОНІЙНИХ ДОБРИВ НА НАКОПИЧЕННЯ АЗОТУ В РОСЛИНАХ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ	581
ЩЕРБИНА О. З., МИХАЙЛОВ В. Г., СТАРИЧЕНКО В. М. ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ В СЕЛЕКЦІЇ СОЇ НА СТІЙКІСТЬ ДО РОЗТРІСКУВАННЯ БОБІВ	584
CALUGARU-SPATARU T., PARII I A.,* DASCALIUC A. PROBLEMS OF INTRODUCTION GOLDEN ROOT (<i>RHODIOLA ROSEA</i> L.) IN AGRICULTURE.	588
TSYGANKOVA V. A. HETEROSIS –LIKE EFFECT OF PLANT GROWTH REGULATORS POST-ACTION	594

МОНОГРАФІЯ

ДОСЯГНЕННЯ І ПРОБЛЕМИ ГЕНЕТИКИ, СЕЛЕКЦІЇ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ
ГЕНЕТИКИ, СЕЛЕКЦИИ
И БИОТЕХНОЛОГИИ

Том 3

Коректура авторів
Комп'ютерна верстка *Шмушковича І. В.*
Художнє оформлення обкладинки *Музиченка С. Ю.*

Підписано до друку 05.07.2012. Формат 60×84 ¹/₁₆. Папір офс. № 1.
Гарнітура «Таймс». Друк офс. Ум. друк. арк. 35,6. Обл.-вид. арк. 37,2.
Наклад 300 прим. Зам. 401.

Видавництво «ЛОГОС»
Свідоцтво ДК № 201 від 27.09.2000 р.
01030, Київ-30, вул. Богдана Хмельницького, 10, тел. 235-60-03