

Національна академія наук України
Національна академія аграрних наук України
Національна академія медичних наук України
Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Українське товариство генетиків і селекціонерів
ім. М.І. Вавилова

ФАКТОРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ЕВОЛЮЦІЇ ОРГАНІЗМІВ

**ФАКТОРЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ЭВОЛЮЦИИ ОРГАНИЗМОВ**

**FACTORS IN EXPERIMENTAL
EVOLUTION OF ORGANISMS**

Збірник наукових праць

ТОМ 13

Присвячено

95-річчю від часу заснування НАН України

Київ

ЛОГОС – 2013

УДК 575.8+631.52+60](082)
ББК 28.04я43+45.3я43+41.3я43+42-3я43
Ф18

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Кунах В.А. – д-р біол. наук, чл.-кор. НАНУ (головний редактор); Дробик Н.М. – д-р біол. наук, професор (заст. головного редактора); Блюм Я.Б. – д-р біол. наук, академік НАНУ; Гродзинський Д.М. – д-р біол. наук, академік НАНУ; Дубровна О.В. – д-р біол. наук; Єльська Г.В. – д-р біол. наук, академік НАНУ; Кучук М.В. – д-р біол. наук, чл.-кор. НАНУ; Лукаш Л.Л. – д-р біол. наук, професор; Малюта 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; Радченко В.Г. – д-р біол. наук, академік НАНУ; Сиволап Ю.М. – д-р біол. наук, академік НААНУ; Сідоров В.А. – д-р біол. наук, чл.-кор. НАНУ; Созінов О.О. – д-р біол. наук, академік НАНУ

Затверджено до друку рішенням вченої ради Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (протокол №6 від 28 травня 2013 р.)

Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. /
Ф 18 НАН України, НААН України, НАМН України, Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова; редкол.: В.А. Кунах (голов. ред.) [та ін.]. – К.: Логос, 2003–2013.

Т. 13: присвяч. 95-річчю від часу заснування НАН України. – 2013. – 360 с.: іл. – укр., рос. – бібліогр. у кінці ст.

У збірнику представлено наукові праці вітчизняних та зарубіжних спеціалістів, написані спеціально для цього видання, присвяченого 95-річчю від часу заснування НАН України.

В оглядових і експериментальних статтях наведено дані з основних напрямків вивчення особливостей аналізу та оцінки генетичних ресурсів, прикладної генетики і селекції, а також 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.

Адреса редакції:

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, вул. Академіка Заболотного, 150, Київ 03680. e-mail: kunakh@imbg.org.ua, <http://www.utgis.org.ua>

Свідоцтво про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації
серія КВ № 20100-9900Р від 08.07.2013

© Українське товариство генетиків
і селекціонерів ім. М.І. Вавилова, 2013

АДАМОВСКАЯ В.Г., МОЛОДЧЕНКОВА О.О., СИЧКАРЬ В.И., КАРТУЗОВА Т.В.,
БЕЗКРОВНАЯ Л.Я., ЛАВРОВА Г.Д.

Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения
НААНУ

Украина, 65036, м. Одесса, вул. Овидиопольская дорога, 3, e-mail: olgamolod@ukr.net

ХАРАКТЕР НАСЛЕДОВАНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ 7S И 11S ГЛОБУЛИНОВЫХ БЕЛКОВ У ГИБРИДОВ F₃ СЕМЯН СОИ

Соя является основным источником растительного белка и аминокислот в питании человека и животных в мире. На мировом рынке она считается стратегической культурой XXI века и передовые страны Европы, Азии и Америки, используя совершенные технологии выделения и очистки ее белков, используют их для производства продуктов питания. Установлено, что наиболее перспективными белками для производства соепродуктов являются глобулины, а именно 7S (β -конглицинин) и 11S (глицинин) глобулиновые фракции [1]. Содержание 7S и 11S фракций глобулиновых белков семян сои, по литературным данным, колеблется для 7S глобулинов в интервале 18,8–28,8 %, а для 11S глобулинов – от 30,8 до 39,9 %, при этом соотношение 11S:7S фракций составляет 1,1:1,8 [2]. 11S и 7S глобулины являются высокомолекулярными белками с четвертичной структурой и неодинаково сбалансированы по аминокислотному составу. От соотношения этих фракций зависят функциональные свойства этих белков и как следствие, – качество соепродуктов и их технологические свойства [3]. Показано, что синтез субъединиц 11S глобулина кодируется семейством генов, созданы кДНК для 5 из них: Gy1, Gy2, Gy3, Gy4 та Gy5 [4]. Описано три гена, кодирующие синтез субъединиц 7S глобулина сои [5]. Признак белковистости семян имеет сложную генетическую и морфогенетическую природу, поэтому для ведения целенаправленной селекции сои продовольственного направления необходимо учитывать закономерности наследования суммарного содержания 7S и 11S глобулиновых белков и влияние исходных форм на характер наследования этих показателей в гибридных комбинациях. Исходя из этого, целью наших исследований было изучение количественного содержания 7S и 11S глобулинов и характер наследования этих показателей у гибридов F₃, созданных на основе родительских

форм сои разного генетического происхождения.

Исследования проводились на 5 гибридных комбинациях (растения F₂семена F₃) сои (*Glicine max.* L.) (Аметист х Ольса, Куйбышевская 77 х Апполон, Паркер х Устя, Вилана х Степовичка 4, (Юрьевка х Изумрудная)х Вилана) и их родительских формах (Аметист, Ольса, Куйбышевская 77, Апполон, Паркер, Устя, Вилана, Степовичка 4, Юрьевка х Изумрудная). Материал был предоставлен отделом селекции, генетики и семеноводства зернобобовых культур СГИ-НЦНС.

В лабораторных исследованиях использовались стандартные для Украины и модифицированные в нашей лаборатории методы биохимического анализа. Содержание белка определяли методом Къельдаля на анализаторе Kejltec Auto 1030, выделение 7S и 11S глобулинов сои проводили методом, разработанным в лаборатории [6], а идентификацию этих белков – методом SDS электрофореза в 15 % ПАГ с использованием прибора фирмы Нем-Hoff. В качестве маркеров молекулярной массы использовали следующую белковую смесь: 97 кДа – фосфоорилаза В, 67 кДа – бычий сывороточный альбумин, 43 кДа – альбумин яичный, 30 кД – карбоангидраза, 20 кДа – ингибитор трипсина, 14,4 кДа – лактальбумин. Степень доминирования определяли методом Гриффинга [7]. Статистическая обработка данных проведена по общепринятым методам с использованием стандартных программ математического обеспечения.

Как видно из таблицы 1, у 4-х гибридных комбинаций отмечалось доминирование более низкобелкового родителя ($h \leq 1$) и при этом коэффициент доминирования у изучаемых гибридных комбинаций колебался от -0,56 до -4,2, и только у гибридной комбинации (Юрьевка х Изумрудная)хВилана содержание белка было выше, чем у обоих родительских форм.

Таблица 1. Содержание белка у гибридов F₃ и их родительских форм семян сои (% на абс. сух. в-во)

№	Название образца	♀	♂	Гибриды	Коэффициент доминирования h _p
1	Аметист × Ольса	40,7	42,4	40,6	-1,0
2	Апполон × Куйбышевская 77	38,6	42,8	39,5	-0,56
3	Вилана × Степовичка 4	38,7	39,4	39,1	-4,2
4	Паркер × Устя	37,1	41,7	37,8	-0,69
5	(Юрьевка × Изумрудная) × Вилана	38,7	40,5	40,7	+1,18

Проведенный анализ содержания 7S глобулиновых белков у гибридов F₃ у которых при отборе в F₂ был заложен принцип высокобелковистости родительских форм, показал, что амплитуда колебания по содержанию этих белков

у гибридных комбинаций находилась в интервале от 27,2 до 35,7 %, а у родительских форм содержание 7S глобулинов в семенах колебалось в интервале от 19,7 до 37,8 % (табл. 2).

Таблица 2. Содержание 7S глобулинов в семенах гибридов F₃ и их родительских форм семян сои (% на абс. сух. в-во)

№	Название образца	♀	♂	Гибриды	Коэффициент доминирования h _p
1	Аметист × Ольса	28,2	19,7	26,9	+0,69
2	Апполон × Куйбышевская 77	25,7	37,8	32,9	+0,28
3	Вилана × Степовичка 4	25,8	26,8	27,2	+1,8
4	Паркер × Устя	28,0	32,8	30,4	+0,076
5	(Юрьевка × Изумрудная) × Вилана	28,4	31,2	35,7	+2,1

Анализ характера наследования 7S глобулиновых белков семян сои позволил отметить следующее: из 5-ти гибридных комбинаций, взятых в изучение, у двух отмечался эффект доминирования лучшего родителя (Вилана × (Юрьевка × Изумрудная) – h_p +2,1), Вилана × Степовичка 4 – h_p+1,8). Как видно из таблицы 2, этот тип наследования проявлялся у гибридов F₃, родительские формы которых по данному признаку различались незначительно. У остальных гибридных комбинаций наблюдался промежуточный тип наследования 7S глобулинов с отклонением в сторону родительских форм с большим содержанием этих белков (h_p от +0,076 до +0,69). По литературным данным, сорта с высоким содержанием белка, как правило, характеризуются высоким содержанием 7S фракции глобулиновых белков [8]. По результатам нашего эксперимента, повышенным содержанием 7S глобулинов характеризовались гибридные комбинации, у которых отцовские формы имели более высокое содержание суммарного белка, по сравнению с материнскими формами (исключе-

нием является гибридная комбинация Аметист × Ольса). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о возможности отбора форм с заданным содержанием 7S глобулиновых белков.

Содержание 11S глобулиновых белков у изучаемых гибридных комбинаций было ниже, чем у обоих родительских форм, используемых в скрещиваниях (табл. 3). Так, из 5 отобранных в скрещиваниях гибридных комбинаций, только у гибридной комбинации Аметист × Ольса отмечался положительный эффект по содержанию 11S глобулинов (h_p+2,0), а у остальных гибридных комбинаций содержание этих белков в зерне наследуется по типу родительских форм с низким содержанием 11S глобулинов (h_p от -0,25 до -2,3).

Резюмируя полученные результаты, можно отметить следующее: приведенные выше результаты согласуются с ранее полученными нами данными о том, что сорта отечественной селекции характеризуются, как правило, высоким содержанием 11S глобулинов, однако в процессе

Таблица 3. Содержание 11S глобулинов в семенах гибридов F₃ и их родительских форм семян сои (% на абс. сух. в-во)

№	Гибриды	♀	♂	F ₃	Соотношение 11S : 7S			Коэффициент доминирования h _p
					♀	♂	F ₃	
1	Аметист × Ольса	30,0	34,5	36,8	1,1	1,75	1,4	+2,0
2	Апполон × Куйбышевская 77	33,8	30,2	28,8	1,3	0,80	0,87	-2,2
3	Вилана × Степовичка 4	31,6	33,1	30,0	1,2	1,1	1,1	-2,3
4	Паркер × Устя	32,9	30,5	31,4	1,2	0,93	1,03	-0,25
5	(Юрьевка × Изумрудная) × Вилана	30,8	32,2	28,4	1,1	1,03	0,79	-2,2

отбора можно выделить формы с заданным высоким содержанием 7S глобулинов. У зернобобовых культур важным показателем их питательной ценности является соотношение 11S:7S глобулиновых фракций, так как 7S глобулины содержат меньше незаменимых серосодержащих

аминокислот. Как видно из таблицы 3, у родительских форм и гибридов, созданных на их основе, этот показатель находится в интервале от 0,75 до 1,75, что свидетельствует о возможности отбора биотипов сои, сбалансированных по аминокислотному составу этих фракций.

Литература

1. Клименко В.Г. Белки семян бобовых растений / В.Г. Клименко. – Кишинев: Штиинца, 1978. – 248 с.
2. Сичкар В.И. Варьирование количества белка и аминокислотного состава у сои // Физиология и биохимия культ. растений. – 1992. – Т. 24. – С. 153–158.
3. Алексеенко А.Ю., Николаев И.В., Винецкий Ю.П. Характер вариабельности запасного белка 11S глобулина сои // Сельскохозяйственная биология. – 1987. – № 2. – С. 13–18.
4. Cho T.J., Davies C.S., Nielsen N.C. Inheritance and organization of glycinin genes in soybean // Plant Cell. – 1989. – V. 1 (3). – P. 329–337.
5. Watanade Y., Hirano H. Nucleotide sequence of the basic 7S globulin gene from soybean // Plant Physiol. – 1994. – V. 105 (3). – P. 1019–1020.
6. Пат. 42181 Спосіб добору сої / Адамівська В.Г., Молодченкова О.О., Січкач В.І., Цісельська Л.Й., Сагайдак Т.В. Патент на корисну модель № 42181. 25.06.2009 р.
7. Griffing B. Concepts of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems // Austral. J. Biol. Sci. – 1956. – № 9. – P. 463–493.
8. Бограчева Т.Я., Беспалова Н.Ю., Леонтьев А.Л. Выделение 7S и 11S глобулинов семян Glycine max // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – Т. 32, №4. – С. 473–477.

**ADAMOVSKAYA V.G., MOLODCHENKOVA O.O., SICHKAR V.I., KARTUZOVA T.V.,
BEZKROVNAYA L.Y., LAVROVA G.D**

*Plant Breeding & Genetic Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation
Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopol'skaya doroga str., 3, e-mail: olgamolod@ukr.net*

CHARACTER OF INHERITANCE OF 7S AND 11S GLOBULINS CONTENTS AT THE F₃ HYBRIDS OF SOYBEEN SEED

Aims. The major components of soybean seed proteins are 11S globulin (glycinin) and 7S globulin (β-conglycinin), which are storage proteins that account for 70 % of the total seed protein. For estimation the biotypes of soybean, excelling initial varieties for protein's quality, the contents and 11S globulins/7S globulins ratio, the character of inheritance of 11S globulins and 7S globulins contents at the F₃ hybrids of soybean seed were studied. **Methods.** Contents of protein were measured according to the Kjeldahl method. 7S and 11S globulins were separated by method, which was developed in the Laboratory of Plant Biochemistry (Patent # 42181). **Results.** It was established, that contents of 11S globulins at the F₃ hybrids is mainly inher-

ited on the type of prevailing of parent with low contents of 11S globulins (h_p from -0,25 to -2,3), and 7S globulins – on the intermediate type of inheritance with deviation to parent with best on contents of 7S globulins (h_p from +0,076 to +0,69). Nevertheless, among the studied hybrid combinations there are hybrids, where the effect of prevailing of the best parent on the contents of these indexes is marked (h_p from +2,0 to +2,1). **Conclusions.** The got results testify that contents of 7S and 11S globulins in the soybean seed at the F_3 hybrids is controlled by the difficult genetic system with the different type of genes action and cooperation. **Key words:** *Glicine max.* L., 11S globulin (glicinin), 7S globulin (β -conglycinin).

БАЄР Г.Я.¹, ПІРКО Я.В.¹, СТАДНІЧУК Н.О.², РАХМЕТОВ Д.Б.², ЄМЕЦЬ А.І.¹, БЛЮМ Я.Б.¹

¹ Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України
Україна, 04123, Київ, вул. Осиповського, 2А, e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

² Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України
Україна, 01014, Київ, вул. Тимірязєвська, 1

ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ ГЕНОТИПІВ *ELEUSINE CORACANA* (L.) GAERTN. ТА *ELEUSINE INDICA* (L.) GAERTN. ЗА ДОПОМОГОЮ ISSR-АНАЛІЗУ

Завдяки досягненням молекулярної генетики та геноміки зроблено вагомий внесок у розвиток біології, відкрито широкі можливості для використання новітніх технологій в практиці сільського господарства. Одним із сучасних напрямків у вирішенні теоретичних і практичних проблем селекції є добір рослин за допомогою генетичних маркерів (Marker Assisted Selection, MAS), який дозволяє на якісно новому рівні здійснювати селекційний процес, оскільки поглиблюються знання про генетичну природу ознаки, локалізацію відповідного гена або генів на певній хромосомі. Протягом тривалого часу об'єктом молекулярно-генетичних досліджень було обмежене коло видів рослин. Розвиток технології дослідження ДНК значно розширив спектр сільськогосподарських культур – об'єктів геномних досліджень. Незважаючи на те, що пальчасте просо (*Eleusine coracana*) займає третє місце після сорго та проса серед злакових культур, які культивуються на малородючих і посушливих ґрунтах, на сьогоднішній день є всього декілька робіт, де за допомогою молекулярних

маркерів охарактеризовано генетичну різноманітність цього виду [13, 10, 8, 14, 11].

У результаті раніше проведених досліджень нами були отримані соматоклональні варіанти пальчастого проса, які містять підвищену кількість вуглеводів, характеризуються підвищеним приростом біомаси та ранніми строками дозрівання, а також високою врожайністю насіння. Один з цих соматоклонів став джерелом для створення високопродуктивного сорту пальчастого проса Ярослав-8. Відомо, що *E. coracana* є тетраплоїдом ($2n=4x=36$) та за морфологічними ознаками подібний до *E. indica* ($2n=18$) та *E. africana* ($2n=36$). Проведений цитологічний аналіз засвідчив, що *E. indica* є донором одного з геномів (AA) для культурного виду *E. coracana* (AABB) [9]. Тому оцінка філогенетичних взаємовідносин між *E. coracana* та *E. indica*, а також генетичного поліморфізму за допомогою молекулярно-генетичних маркерів залишається одним із пріоритетних та актуальних завдань сьогодення.

Матеріали і методи

У роботі використовували два сорти *E. coracana*, отримані методами класичної селекції (Тропіканка і Євгенія) [6], три соматоклони *E. coracana* (SE-7 (сорт Ярослав-8), SE-1, SE-4) [3, 1], які було отримано від сорту Тропіканка, та три генотипи *E. indica*, два з яких (*E. indica* CAL 4A-21, *E. indica* CAL 4A-1) є стійкими до дії динітроанілінових гербіцидів і були любязно надані професором У.В. Баярдом (Мічиганський Університет, США).

ДНК виділяли із свіжого листя за допомо-

гою ЦТАБ-методу [7]. Якість отриманої ДНК перевіряли за допомогою електрофорезу в 1,5 %-ному агарозному гелі, а також спектрофотометрично на біофотометрі «Eppendorf» з визначенням її концентрації. Для аналізу використовували 3 олігонуклеотидні праймери до мікросателітних послідовностей з двома селективними нуклеотидами на 3'-кінці та один праймер без них (табл. 1). Праймери було синтезовано на приладі AB 3400 DNA Synthesizer з наступною доочисткою (ЦККП «Гентест», Інститут харчо-

вої біотехнології та геноміки НАН України). Реакційна суміш для проведення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) об'ємом 25 мкл містила: 50 нг геномної ДНК, 0,2 мкМ праймера, 200 мкМ суміші dNTPs, 2,5 одиниці Taq-полімерази (Реплікон, Росія). Ампліфікацію проводили на

ампліфікаторі Thermal Cycler 2720 («Applied Biosystems», США) за наступною схемою: початкова денатурація – 95°C, 5 хв; ампліфікація – 45 циклів (95°C – 1 хв, 40°C – 1 хв, 72°C – 2 хв); кінцева елонгація – 72°C – 7 хв.

Таблиця 1. Праймери, що були використані для аналізу молекулярно-генетичного поліморфізму представників роду *Eleusine*

Праймер	5'→3' послідовність	Загальна кількість локусів, шт	Поліморфні локуси, шт	Поліморфізм, %	Розмір фрагментів, пн.
ISSR-3	(CT) ₈ TG	5	4	80,0	300–500
ISSR-4	(CA) ₅ GT	7	6	85,7	240–1200
ISSR-16	(AG) ₇ GT	12	11	91,6	250–1300
ISSR-18	(ACTG) ₅	16	16	100	300–1700
Всього:		40	37	92,5	

Продукти ампліфікації розділяли за допомогою електрофорезу в 1,5 %-ному агарозному гелі в 1xTBE-буфері в присутності етидії броміду. Візуалізацію фрагментів проводили в ультрафіолетовому світлі. Для визначення довжини фрагментів використовували маркери довжини ДНК (GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder, ready-to-use, «Fermentas» (Литва), та 1Kb Plus DNA Ladder, «Invitrogen» (США). За результатами аналізу була створена бінарна матриця на основі виявлених ампліконів за допомогою 4 ISSR-

праймерів. Кожний ISSR-фрагмент розглядався як окремий генетичний локус. Рівень поліморфізму визначали як відношення поліморфних локусів до загальної кількості локусів, визначених з використанням кожного праймера та відображали у відсотках. Генетичні дистанції Нея-Лі [12] розраховували за допомогою програми TREES [4]. У подальшому вони були використані для кластеризації досліджуваних генотипів (UPGMA-метод).

Результати та обговорення

У результаті проведеного ISSR-аналізу було виявлено 40 чітко відтворюваних ампліконів (локусів), з яких 3 (7,5 %) виявились мономорфними для усіх досліджених генотипів. Кількість ампліфікованих фрагментів за умов ПЛР з праймером ISSR-3 склала 5, з ISSR-4 – 7, ISSR-16 – 12 та 16 з праймером ISSR-18. Загальна кількість ампліфікованих фрагментів для *E. coracana* була 27, з яких 22 (81,5 %) виявились поліморфними, тоді як у представників *E. indica* виявлено 28 фрагментів, 21 (75 %) з яких були поліморфними. Слід відмітити, що у групі, яка об'єднує соматкони пальчастого проса, з 18 ампліконів лише 10 (55,5 %) виявились спільними, що вказує на високу диференціюючу здатність використаних праймерів. Більшість ампліфікованих фрагментів мали довжину в межах 300–1300 п.о. Варто відмітити, що для деяких генотипів були виявлені унікальні, характерні лише для них амплікони, які можуть бути цікавими для подальших генетичних та селекційних досліджень. Зокрема, з 8 проаналізованих зразків у 6 було виявлено унікальні фрагме-

нти. Слід зазначити, що їх найбільшу кількість було ідентифіковано у генотипів *E. indica* та сорту Євгенія.

Для оцінки генетичних взаємовідносин між представниками обох видів за сумарними даними ISSR-аналізу було проведено розрахунок генетичних дистанцій (D_N) та кластеризацію досліджених генотипів (рис. 1). У результаті зразки *E. coracana* та *E. indica* були розподілені на два кластери. Значення генетичних дистанцій варіювало в доволі широких межах. Мінімальне значення D_N (0,054) було виявлено між зразками *E. indica* CAL 4A-21 та *E. indica* CAL 4A-1, а найбільше – між сортом Євгенія та *E. indica*. З наведеної дендрограми видно, що генотипи згруповані в два кластери. Перший кластер містить представників *E. coracana*, а другий – об'єднує зразки *E. indica*. У межах кластерів спостерігається розподіл по групах, які відповідають їх генотиповій приналежності, а саме: у *E. coracana* сорт Тропіканка, який був вихідним для отримання сорту Ярослав-8 та соматклонів,

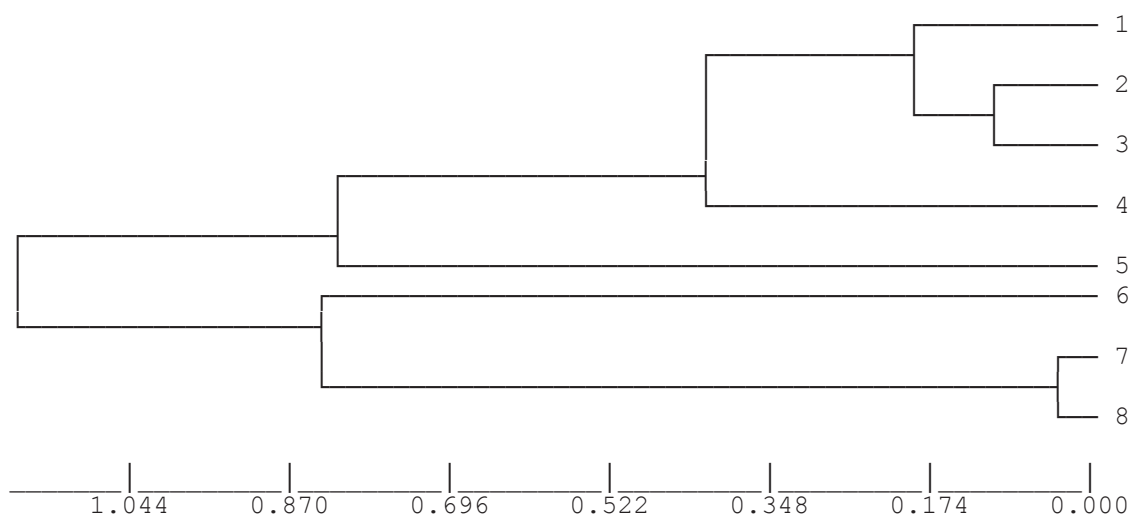


Рис. 1. Дендрограма, що відзеркалює генетичну диференціацію досліджених зразків у межах роду *Eleusine* (побудована на підставі значень D_N): 1–5 *E. coracana* (1 – сорт Тропіканка, 2 – SE-1; 3 – сорт Ярослав-8; 4 – SE-4; 5 – сорт Євгенія); 6 – 8 *E. indica* (6 – IND, 7 – CAL 4A-21, 8 – CAL 4A-1)

об'єднується з ними в одну підгрупу, причому соматоклон SE-4 виявився найбільш віддаленим від вихідного сорту. Сорт Євгенія, отриманий за допомогою методів класичної селекції, виявився максимально генетично диференційованим від соматоклонів та сорту Тропіканка. У групі генотипів *E. indica* дві динітроанілін-стійкі лінії також об'єдналися в одну підгрупу, що свідчить про високий рівень їх генетичної спорідненості. У цілому використані в нашому дослідженні соматоклони *E. coracana* за даними ISSR-аналізу доволі суттєво відрізнялися один від одного та від вихідного сорту Тропіканка, що знайшло віддзеркалення у відмінностях за їх морфологічними, фізіологічними та біохімічними характеристиками [2, 3, 5].

Відомо, що метод ISSR є цінним інструментом не лише для визначення генетичної гетерогенності популяцій, а і для оцінки рівня мі-

нливості калюсів та регенерантів в культурі *in vitro* [15, 16, 17, 18].

Таким чином, отримані дані вказують на існування певних генетичних відмінностей між дослідженими сортами та соматоклонами *E. coracana*, а також лініями *E. indica*, що створює передумови для використання вище зазначених праймерів та ISSR-аналізу в цілому для генетичного маркування генотипів пальчастого проса. Набуття інформації про будову геному *E. coracana* дозволить у майбутньому використовувати інші молекулярні маркери, отримані завдяки сіквенуванню ДНК, що дасть можливість спрямувати подальші дослідження на пошук взаємозв'язку між відповідними генетичними маркерами та господарсько-цінними ознаками пальчастого проса, що значно оптимізує трудомісткий та довготривалий традиційний селекційний процес.

Література

1. А.с. 09551 України на сорт рослин. Назва сорту: Ярослав-8; ботанічний таксон: *Eleusine coracana* (L.) Gaertn., Елевсіна (Дагуса) / Н.О. Стаднічук, Баєр Г.Я., Ємець А.І., Блюм Я.Б. – № 08324001, опубл. 03.11.2008.
2. Баєр Г.Я., Ємець А.І., Стаднічук Н.А., Рахметов Д.Б., Блюм Я.Б. Соматоклональна варіабельність як джерело для створення нових сортів пальчастого проса *Eleusine coracana* (L.) Gaertn // Цитология и генетика. – 2007. – Т.41. – С. 9–15.
3. Баєр Г.Я., Рахметов Д.Б., Стаднічук Н.А., Ємець А.І., Блюм Я.Б. Соматоклональна варіабельність в культурі *in vitro* як джерело для отримання селекційного матеріалу пальчастого проса *Eleusine coracana* (L.) Gaertn // Физиол. биохим. культ. растений. – 2009. – Т.35. – С. 1–8.
4. Календарь Р.Н. Компьютерная программа для построения эволюционных деревьев на основе электрофоретических данных ДНК и белков: материалы конференции «Молекулярно-генетические маркеры и селекция растений». – Киев, 1994. – С. 25–26.
5. Рахметов Д.Б., Баєр Г.Я., Стаднічук Н.О., Ємець А.І., Блюм Я.Б. Вивчення біохімічних характеристик соматоклональних варіантів пальчастого проса // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. / Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова. – К.: Логос, 2008. – Т. 5. – С. 430–434.

6. Стадничук Н.О. Интродукция *Eleusine coracana* (L.) Gaertn. на уровне сорта в Лесостепи Украины // Биологическое разнообразие. Интродукция растений. – Санкт-Петербург, 2003. – С. 257–259.
7. Ausubel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moor D.D., Seidman J.G. Current protocols in molecular biology // John Wiley & Sons. – New York, 1987. – P. 4.3.1–4.3.3.
8. Babu B., Senthil N., Gomes S., Biji K., Rajendraprasad N., Kumar S., Babu R. Assessment of genetic diversity among finger millet (*Eleusine coracana* L.) accessions using molecular markers // Genet. Res. Crop Evol. – 2007. – Vol. 54. – P. 399–404.
9. Dida M.M., Devos K.M. Finger millet // Genome mapping and molecular breeding in plants. Cereals and millets / eds. C. Kole. – Heidelberg: Springer, 2006. – P. 333–343.
10. Fakrudin B., Shashidhar H.E., Kulkkarni R.S., Hittalmani S. Genetic diversity assessment of finger millet, *Eleusine coracana*, germplasm through RAPD analysis // Plant Genet. Res. Newsl. – 2004. – Vol. 138. – P. 50–54.
11. Kumar A., Sharma N., Panwwar P., Gupta A. Use of SSR, RAPD markers and protein profiles based analysis to differentiate *Eleusine coracana* genotypes differing in their protein content // Mol. Biol. Rep. – 2012. – Vol. 39. – P. 4949–4960.
12. Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1979. – Vol. 76. – P. 5269–5273.
13. Parani M., Rajesh K., Lakshmi M., Parducci L., Szmidi A.E., Parida A. Species identification in seven small millet species using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of trnS –psbS gene region // Genome. – 2001. – Vol. 44. – P. 459–499.
14. Sinha A., Pande A. Finger printing of *Eleusine coracana* L. (Gaertn.) using microsatellite markers // Bioresearch Bull. – 2010. – Vol. 2. – P. 51–58.
15. Joshi P., Dhawan V. Assessment of genetic fidelity of micropropagated *Swertia chirayita* plantlets by ISSR marker assay // Biol. Plantarum. – 2007. – Vol. 51. – P. 22–26.
16. Hu J., Gao X., Liu J., Xie C., Li J. Plant regeneration from petiole callus of *Amorphophallus albus* and analysis of somaclonal variation of regenerated plants by RAPD and ISSR markers // Botanical Studies – 2008. – Vol. 49. – P. 189–197.
17. Бублик О.М., Андреев І.О., Спірідонова К.В., Кунах В.А. Мінливість міжмікросателітних ділянок геному (ISSR) у культурі тканин *Ungernia victoris* // Фактори експериментальної еволюції організмів: зб. наук. пр. – К.: Логос, 2010. – Т. 9. – С. 8–12.
18. Конвалюк І.І., Мельник В.М., Дробик Н.М., Кравець Н.Б., Твардовська М.О., Кунах В.А. RAPD- та ISSR-аналіз генетичної мінливості у культурі тканин та органів тирличу звичайного (*Gentiana pneumonanthe* L.) // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2001. – Т. 9, №1. – С. 21–35.

BAYER G.Ya.¹, PIRKO Ya.V.¹, STADNICHUK N.A.², RAKHMETOV D.B.², YEMETS A.I.¹, BLUME Ya.B.¹

¹*Institute of Food Biotechnology and Genomics, National Academy of Sciences of Ukraine Ukraine, 04123, Kyiv, Osipovskogo str., 2A, e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net*

²*M.M. Grishko National Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine Ukraine, 01014, Kyiv, Timiryazevska str., 1*

STUDYING THE GENETIC VARIATION OF *ELEUSINE CORACANA* (L.) GAERTN. AND *ELEUSINE INDICA* (L.) GAERTN. GENOTYPES BY ISSR-ANALYSIS

Aims. The aim of investigation is the applicability of ISSR markers for uncovering polymorphism to study the relationships between *Eleusine coracana* and *Eleusine indica* genotypes. **Methods.** Eight genotypes were analyzed using four primers. Extracted DNA was successfully used for study by ISSR-PCR method. The genetic distances were used to construct the UPGMA dendrogram which characterized relationships between studied genotypes. **Results.** The level of genetic polymorphism of *E. coracana* is 81,5 % and *E. indica* – 75 %. The unique fragments have been revealed in 6 genotypes. The studied genotypes were divided in two clusters according their genetic background. **Conclusions.** It was shown that ISSR analysis is the useful method for fingerprinting and determination of relationships between the different *E. coracana* and *E. indica* genotypes.

Key words: *Eleusine coracana*, *Eleusine indica*, ISSR-PCR, polymorphism, genetic distances.

БАЗАЛІЙ В.В., БОЙЧУК І.В., ЛАРЧЕНКО О.В., БАБЕНКО Д.В., БАЗАЛІЙ Г.Г.

Вищий державний навчальний заклад «Херсонський аграрний університет» Мінагрополітики і продовольства України

Україна, 73006, м. Херсон, вул. Рози Люксембург, 23, e-mail: office@kherson.ua

ХАРАКТЕР ПРОЯВУ ЗИМОСТІЙКОСТІ ТА ВРОЖАЙНОСТІ СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ РІЗНОГО ТИПУ РОЗВИТКУ ЗАЛЕЖНО ВІД УМОВ ВИРОЩУВАННЯ

Однією з основних причин нестійкого виробництва зерна пшениці м'якої озимої в зоні південного Степу України є несприятливі погодні умови під час її вегетації та особливо зимівлі.

Формування біомаси в осінній період за рахунок кущистості, а не наростання рослин у висоту, є одним із показників зимоморозостійкості сортів пшениці [1, 2]. Одним із якісних показників підвищеної зимостійкості сортів пшениці озимої є економна витрата рослинами цукру в процесі зимівлі, тобто не абсолютний вміст запасних цукрів в осінній період (він може бути достатньо високим у всіх сортів), а їх економне витрачання під час зимівлі зумовлює стійкість рослин до несприятливих умов, в першу чергу до від'ємних температур [3, 4]. Поєднання скоростиглості, високої продуктивності і достатнього рівня зимо- і морозостійкості детермінується генетичними системами високої потреби в яровизації і слабкої чутливості до фотоперіоду [4, 5, 6]. Проблема перезимівлі пшениці м'якої озимої вирішується різними шляхами часто суперечливими, що можна пояснити недостатніми знаннями зв'язку між метеорологічними чинниками, ростом і розвитком рослин і

їх реакцією на конкретні умови вирощування [7, 8, 9]. Натомість оптимальні календарні строки сівби не завжди збігаються в різні роки зі строками, які забезпечують рослинам високу зимостійкість [9, 10]. В останні роки літо й осінь стали прохолодними, а зима і весна теплішими і сприятливішими для перезимівлі озимих та відростання рослин весною [11]. Дослідження з цього питання зазначають, що зими останнього десятиріччя характеризувалися глибокими довготривалими відлигами, значним скороченням періоду зимового спокою озимих культур. Відновлення вегетації рослин відбувалося на 2–3 тижні раніше багаторічних строків, у південному регіоні в окремі роки зимового спокою у рослин не спостерігалось зовсім [12].

У системі адаптивного рослинництва особливу увагу необхідно приділяти сортовій політиці, яка сприяє спрямованому конструюванню агроєкосистем. Значні реакції різних сортів пшениці озимої на абіотичні чинники довкілля, характер прояву і взаємозв'язок кількісних ознак є основою для спрямованого використання цих сортів у програмі адаптивного рослинництва.

Матеріали і методи

Польові та лабораторні досліді проводили протягом 2008–2011 рр. на дослідних полях ВНЗ «ХДАУ», НВФ «Дріада» і ДПДГ «Асканійське». Дослідження проводили за методиками польового досліді [13]; «Державна комісія України по випробуванню та охороні сортів рослин [14]. Екологічну стійкість сортів в контрастних умовах зовнішнього середовища визначено за рівняннями Россілі і Хембліна [15]. Зимостійкість рослин озимої пшениці визначали польовим ме-

тодом. В дослідженнях вивчали сорти пшениці м'якої озимої різного генетичного і екологічного походження, які занесені в Державний Реєстр сортів рослин України (Херсонська безоста, Пошана, Дріада 1, Кірена, Ярославна, Одеська 267, Ніконія, Вікторія одеська, Куяльник, Знахідка одеська, Писанка, Селянка, Красуня одеська, Українка одеська, Харус, дворучки пшениці – Соломія, Клариса, Ласточка, Nevesinka, NS 471, NS 446, яра пшениця – Харківська 30).

Результати та обговорення

Серед багатьох факторів, що впливають на ріст і розвиток рослин пшениці м'якої озимої, її зимостійкість і в цілому на продуктивність особливо важливе значення мають водний і поживний режим ґрунту, які забезпечуються відповідними строками сівби, попередниками пшениці озимої. Вони мають вирішальне значення на

польову схожість насіння, повноту сходів, інтенсивність початкового росту рослин і визначають віковий стан рослин.

У південному Степу України зима в цілому тепла і сприятлива для перезимівлі пшениці озимої, але часто спостерігаються відлиги з утворенням льодової кірки, що часто призводить

до зрідження, а то і загибелі посівів. В останні роки, особливо це характерно для 2010/11 року, недостаток вологи в ґрунті в осінній період зумовило сівбу пшениці озимої проводити в пізні строки, що викликало зрідження і не розкущення рослин посівів, а в подальшому від від'ємних і різких перепадів температур постраждали практично всі сорти. Наявність таких умов дало

змогу провести оцінку їх адаптивних особливостей за зимостійкістю. Як видно з даних таблиці 1, сорти пшениці озимої практично мало відрізнялись за зимостійкістю за сприятливих умов вирощування, а за несприятливих умов проявилась чітка диференціація їх за цією властивістю, про що свідчить показник фенотипової стабільності.

Таблиця 1. Зимостійкість і показники фенотипової стабільності за зимостійкістю у різних сортів пшениці м'якої озимої (2009/10 р., 2010/11р.)

Сорт	Зимостійкість, % живих рослин			Показник фенотипової стабільності, SE = HE/LE		
	I	II	III	I	II	III
Дріада 1	96,7/55,4	96,6/55,5	92,8/55,5	1,75	1,92	1,69
Херсонська безоста	98,7/45,5	92,4/45,5	90,5/40,4	2,18	2,04	2,25
Кірена	98,5/55,5	96,4/55,0	95,5/50,5	1,78	1,75	1,58
Ярославна	96,7/50,0	95,5/50,5	90,5/45,5	1,94	1,92	2,00
Одеська 267	98,5/60,0	96,5/50,0	95,5/50,5	1,63	1,61	1,91
Селянка	95,5/40,5	94,5/40,0	90,8/45,5	2,38	2,35	2,02
Куяльник	95,5/50,5	90,8/38,4	90,5/35,5	1,91	2,39	2,57
Ніконія	90,0/40,0	89,5/35,5	86,4/30,5	2,25	2,54	2,86
Вікторія одеська	96,0/40,0	90,6/30,0	92,5/25,5	2,40	3,03	3,68
Знахідка одеська	98,5/55,5	95,5/50,0	95,0/50,5	1,78	1,90	1,91
Харус	96,4/50,8	98,5/55,5	96,5/50,4	1,88	1,78	1,92
Писанка	90,8/20,0	86,5/15,0	80,5/18,0	4,55	5,73	4,44
Пошана	92,4/25,0	89,5/20,0	85,5/15,0	3,68	4,50	5,67

Примітки: I – ДС «Асканійське» НААНУ, II – НВФ «Дріада», III – ХДАУ; чисельник – 2009/10р. – сприятливий рік, знаменник – 2010/11р. – несприятливий рік; HE і LE відповідно високі і низькі значення ознаки в мінливих умовах.

Вивчення сортів пшениці озимої в різних зимостійкість співпадала за виразом, про що також свідчать показники їх фенотипової стабільності. Але необхідно відмітити сорти Дріада 1, Одеська 267, Кірена, Знахідка одеська, Харус, які володіють найбільш високою стабільністю показника зимостійкості в різних агро-екологічних зонах (табл. 1). Так, показник фенотипової стабільності зимостійкості у них за різних умов вирощування коливався в межах 1,75–1,88 при проведенні дослідів в ДС «Асканійське» НААНУ та відповідно 1,75–1,90 і 1,58–1,92 на дослідних полях НВФ «Дріада» і ВНЗ «ХДАУ». Ряд сортів пшениці м'якої озимої (Пошана, Писанка, Вікторія одеська) за несприятливих умов вирощування в різних пунктах досліджень практично загинули. Показник фенотипової стабільності зимостійкості мав низьке значення (HE = 3,03–5,73). Від якості сівби восени значною мірою залежить подальший розвиток посіву, його стійкість до несприятливих умов зимівлі і кінцевий результат, так як основи врожайності пшениці озимої закладаються на

еколого-кліматичних умовах показало, що їх початку розвитку рослин. В посушливому південному Степу часто навіть за оптимальних строків сівби рослини восени не кушаться, це спостерігається тоді, коли через відсутність вологи в ґрунті сходи з'являються пізно. Важливо знати, як сорти пшениці озимої реагують на формування продуктивної кущистості за різних умов вирощування, як вони зимують при переростанні посівів і навпаки з недостатнім кушінням. Відповідно необхідно диференціровано використовувати великий генофонд пшениці озимої, особливо звертати увагу на тривалість стадії яровізації і фотоперіодичну чутливість. На даний час така інформація надається сортам пшениці озимої, які занесені в Державний Реєстр сортів рослин України.

Наші дослідження показали, що зимостійкість по різному проявлялась у рослин сортів пшениці озимої залежно від строків сівби, попередників, погодних умов довкілля та генотипу. Деякі сорти пшениці озимої, які характеризуються слабо вираженою фотоперіодичною чут-

ливістю і короткою стадією яровизації в окремі роки при відповідних умовах довкілля ведуть себе як «умовні дворучки», це дає можливість їх з успіхом використовувати при пізніх строках сівби, де «типово» озимі сорти пшениці значно знижують свою потенціальну продуктивність. Використання позитивного ефекту цієї взаємодії у виробничих умовах шляхом приведення наявного сортового складу пшениці до конкретних

агротехнічних умов і впровадження у виробництво сортів дворучок пшениці, безумовно буде слугувати підвищенню конкурентної здатності пшениці озимої. Прогнозування мінливості врожайності різних сортів пшениці в межах умов вирощування можливе при регресивному аналізі, який характеризує середню реакцію сорту на зміну умов довкілля, тобто визначає їх пластичність і стабільність (табл. 2).

Таблиця 2. Параметри екологічної пластичності і стабільності врожайності різних за типом розвитку сортів пшениці при контрастних умовах вирощування

Сорт	Строки сівби	Статистичні показники					
		\bar{x} , т/га	$Y_2 - Y_1$	$\frac{(Y_2 + Y_1)}{2}$	V, %	b_1	$S^2 d_i$
Помірно сприятливий рік (2009/10р.)							
Одеська 267	25.09–	4,09	-1,08	4,05	28,6	0,869	14,5
Херсонська безоста	05.11	4,11	-1,95	4,09	29,5	1,019	18,4
Соломія		4,06	-1,72	4,10	20,8	0,710	14,8
Клариса		4,05	-1,89	4,06	19,5	0,980	15,6
Nevesinka		3,95	-2,10	3,54	29,4	1,080	20,2
Ласточка		3,65	-1,90	3,60	25,4	0,985	29,2
Харківська 30		10.03–	1,82	-1,12	1,65	16,8	1,216
Соломія	10.04	2,94	-2,85	2,58	28,5	1,015	15,4
Клариса		3,25	-1,84	3,12	20,8	0,980	10,4
Nevesinka		2,05	-1,90	1,98	25,4	1,015	14,5
Ласточка		2,00	-1,85	1,85	20,8	0,980	12,0
Несприятливий рік (2010/11р.)							
Одеська 267	25.09–	2,85	-0,95	2,74	30,4	1,018	19,6
Херсонська безоста	05.11	2,45	-0,84	2,14	29,5	0,950	19,5
Соломія		2,10	-0,80	2,05	20,8	0,880	16,4
Клариса		2,95	-0,65	2,55	18,5	0,918	10,5
Nevesinka		1,80	-0,85	1,55	26,5	0,785	16,5
Ласточка		1,40	-0,85	1,30	20,4	1,048	19,5
Харківська 30		10.03–	2,10	-0,95	1,98	24,8	1,020
Соломія	10.04	3,10	-0,70	3,05	20,8	0,980	9,4
Клариса		3,95	-0,65	3,55	16,5	0,818	8,5
Nevesinka		2,80	-0,85	2,55	20,5	0,785	10,5
Ласточка		2,40	-0,95	2,30	22,4	1,020	16,5

Примітки: Y_1 – максимальна врожайність сорту за різних умов вирощування, Y_2 – мінімальна врожайність сорту за різних умов вирощування.

Різниця $Y_2 - Y_1$ має від'ємний знак і вказує на рівень стійкості сортів до стресових умов вирощування. Чим менше розрив між мінімальною (Y_2) і максимальною (Y_1) врожайністю, тим вище стійкість сорту до стресової ситуації. В наших дослідженнях відносно високу стійкість до несприятливої перезимівлі і посухи 2010/11 року серед вивчених сортів показали дворучки пшениці Клариса і Соломія, які при ранній весняній сівбі перевищували за врожайністю навіть сорти пшениці озимої Одеська 267, Херсонська безоста, які вирощувались в різні

строки осінньої сівби (табл. 2). Показник $(Y_2 - Y_1) / 2$ відображає врожайність сортів в конкретних (сприятливих і несприятливих) умовах та характеризує генетичну чутливість сорту, його компенсаторну здатність. Чим вище ступінь відповідності між генотипом сорту і різними чинниками довкілля (кліматичні, біотичні та ін.) тим вище цей показник. В наших дослідженнях при сприятливих умовах вирощування цей показник був вищим в типово озимих сортів Одеська 267, Херсонська безоста і дворучки пшениці Клариса, а при несприятливих умовах 2010/11

року лише у сортів дворучек Соломія, Клариса при весняній сівбі.

Вирішити проблему оптимізації норми реакції сорту можна у випадку прив'язки його до конкретних лімітуючих чинників зовнішнього середовища. Сорт пшениці згідно моделі Еберхарта і Рассела [16] в ідеалі повинен мати коефіцієнт регресії (b_1), близький до одиниці і вище, а показник стабільності S^2_{di} близький до нуля. В наших дослідженнях за різних умов вирощування у більшості сортів пшениці показник фенотипової пластичності (b_1) був близько до одиниці і вище (табл. 2). Перевага ряду сортів за врожайністю була в основному в сприятливий рік, в несприятливий знижувалась, а в деяких випад-

Висновки

1. Враховуючи велику кількість сортів пшениці озимої в Реєстрі сортів рослин України, доцільно проводити тестування нових сортів за параметрами адаптивності з метою надання конкретних рекомендацій для відповідного технологічного забезпечення.

2. Сорти альтернативного типу Соломія, Клариса показали врожайність за пізнього строку сівби на рівні оптимального, тому для ефективного використання сортового складу за необхідністю їх рекомендувати для сівби в більш пізні строки, а також використовувати як страхову культуру при пересіві загиблих посівів

ках повністю нівелювалась, що приводило до збільшення розриву між максимальною і мінімальною врожайністю. Таким чином, збільшення пластичності сортів приводить до зменшення їх пристосованості і стабільності, тому намагатися до збільшення фенотипової пластичності не слід, так як це підвищує чутливість сорту не лише до сприятливих, але і до несприятливих умов. Більш стійкі сорти Одеська 267, Клариса до стресових ситуацій відрізняються відносно низькою нормою реакції на зміну умов вирощування, коефіцієнт регресії у них менше одиниці, із подальшим зниженням його, стійкість до несприятливих умов збільшується.

пшениці озимої та як яру культуру при сівбі в «лютневій вікна» і ранньою весною.

3. Стійкі сорти до стресових ситуацій відрізняються відносно низькою нормою реакції на зміну умов вирощування, коефіцієнт регресії у них менше одиниці, з подальшим зниженням його стійкість сортів до несприятливих умов збільшується. У наших дослідженнях такими сортами були Одеська 267, Дріада 1, Знахідка одеська, Харус. Ці сорти пшениці озимої володіють високою зимостійкістю і найбільшою стабільністю її прояву за різних умов вирощування.

Література

1. Литвиненко Н.А., Козлов В.В. Связь темпов осеннего и ранневесеннего роста и развития растений с продуктивностью и морозоустойчивостью у озимой пшеницы // Технология возделывания зерновых и колосовых культур и проблемы их селекции. – М.: Миронька: НИИСП, 1990. – С. 24–31.
2. Савранчук В.В., Мостіпан М.І., Ліман П.Б. Формування врожайності та посівних якостей насіння у озимій пшениці залежно від строків сівби в умовах Північного Степу України // Збірник наукових праць СГП. – Одеса, 2004. – Вип. 6 (46). – С. 55–62.
3. Орлюк А.П. Вплив генетичних факторів на морозостійкість і зимостійкість озимої пшениці // Таврійський науковий вісник. – Херсон: Айлант, 2004. – Вип. 32. – С. 10–18.
4. Орлюк А.П. Трансгресивна мінливість та її використання у селекції пшениці // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. – К.: Логос, 2001. – Т. 2. – С. 454–458.
5. Власенко В.А., Коломієць Л.А., Маринка С.М. Використання вихідного матеріалу різних типів розвитку в селекції озимої пшениці // Фактори експериментальної еволюції організмів. – К.: Логос, 2003. – С. 245–249.
6. Шмальгаузен И.И. Стабилизирующий отбор и эволюция индивидуального развития // Изб. тр. – М.: Наука, 1982. – С. 351–372.
7. Нетіс І.Т. Характер осені й весни та посіви озимої пшениці / І.Т. Нетіс. – Херсон: Айлант, 2004. – 152 с.
8. Федорова Н.А. Зимостійкість і врожайність озимої пшениці / Н.А. Федорова. – К.: Урожай, 1972. – 260 с.
9. Левенко А.А. Агророметеоусловія и элементы продуктивности по фазам развития озимой пшеницы // Вісник аграрної науки. – 1993. – №7. – С. 97–99.
10. Митрополенко А.И. Диагностика жизнеспособности озимых зерновых культур и пути её совершенствования // Вісник аграрної науки. – 1993. – №7. – С. 85–92.
11. Нетіс І.Т. Посухи та їх вплив на посіви озимої пшениці / І.Т. Нетіс. – Херсон: Айлант, 2008. – 252 с.
12. Адаменко Т.І. Зміна агрокліматичних умов холодного періоду в Україні при глобальному потеплінні клімату // Агронаом. – 2006. – №4. – С. 12–13.
13. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований) / Б.А. Доспехов. – М.: Агрпромиздат, 1985. – 351 с.

14. Охорона прав на сорти рослин. Офіційний бюлетень. Державна комісія по випробуванню та охороні сортів рослин. – К.: Алефа, 2003. – Вип. 2-3. – С. 5–6, С. 191–193.
15. Rossielle A.A., Hamblin A.A. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments // Crop. Sci. – 1981. – Vol. 21, №6. – P. 44–46.
16. Eberhart S.A., Russelle W.A. Stability parameters for comparig varieties // Crop. Sci. – 1966. – Vol. 6, № 1. – P. 36–40.

BAZALIJ V.V., BOYCHUK I.V., LARČENKO O.V., BABENKO D.V., BAZALIJ G.G.

Supreme State institution Ukraine «Kherson Agrarian University and the Ministry of food in Ukraine Ukraine, Kherson, 73006, Rosa Luxembourg str., 23, e-mail: office@kherson.ua

THE CHARACTER OF YIELD AND HARDINESS VARIETIES OF SOFT WHEAT OF DIFFERENT TYPES OF DEVELOPMENT DEPENDING ON THE GROWING CONDITIONS

Aims. One of the main causes of unstable grain production of winter wheat in the southern zone of soft Steppes of Ukraine is the weather conditions during the growing season and winter. Soft winter wheat varieties Odesskaya 267, Dryada 1, Znahidka odesskaya, Kharus own high winter hardiness stable of it's manifestation in different growing conditions. Variety of alternative types Solomia, Clarissa showed yields at late times of sowing at the optimum so they must be used at a later date for planting, as well as insurance culture in passages dead of winter wheat crops, and how to sow spring crops in the «Februarys windows» and early spring. **Methods.** In the State Register of plant varieties of Ukraine writed studies of winter wheat varieties at different soft-genetic and ecological origins. **Results.** Further development of the crop, the resistance to the harsh winter and the final result depends on the quality of sowing in autumn because the basics of winter wheat yields are formed during early plant development. **Conclusions.** Varieties resistant to stressful situations have a relatively low rate of response to changes in growth conditions, they have regression coefficient less than 1 with its further decline, resistance to adverse conditions varieties increases.

Key words: soft winter, insurance culture, early spring, wheat varieties, yields.

БОНДУС Р.О., ХАРЧЕНКО Ю.В.

Устимівська дослідна станція рослинництва Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН Україна, 39074, с. Устимівка, Глобинський р-н, Полтавська обл., e-mail: udsr@ukr.net

АНАЛІЗ ТА ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ КАРТОПЛІ НА УСТИМІВСЬКІЙ ДОСЛІДНІЙ СТАНЦІЇ РОСЛИНИЦТВА

В Україні з 1992 року розпочато формування генетичних ресурсів рослин, організаційним ядром якого став Національний центр генетичних ресурсів рослин України (НЦГРРУ). Головним завданням НЦГРРУ є мобілізація світового генетичного різноманіття рослин для потреб вітчизняного сільського господарства та інших галузей економіки, а також збереження цього різноманіття у стані життєздатності та генетичної автентичності для використання сучасним та майбутніми поколіннями. Для реалізації цього призначення необхідно здійснювати поповнення Національного генбанку новими джерелами і донорами цінних господарських і біологічних ознак вітчизняного та зарубіжного походження, проводити всебічне вивчення зосередженого у ньому генофонду рослин за цими ознаками, вести пошук і адаптацію нових культур, підтримувати у насінневих та польових ко-

лекціях зразки генофонду рослин та забезпечувати ними користувачів [1].

Після здобуття Україною незалежності, у відповідності з Постановою Президії УААН №16 від 20 серпня 1993 року Устимівська дослідна станція рослинництва (Устимівська ДСР) підпорядковується Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва УААН. Наразі вона є базовою науковою установою НЦГРРУ. Кількісний склад сконцентрованого на станції генофонду рослин перевищує 25 тисяч зразків 114 сільськогосподарських культур. Колекції рослин, які тут підтримуються, визнані національним надбанням, що не мають аналогів в Україні і можуть бути використані в селекційних, дослідницьких та навчальних програмах [2].

Щороку співробітниками дослідної станції інтродукується понад тисячу зразків генофонду різних рослин, в тому числі картоплі. Картопля

– одна з найбільш поширених культур у світі. Вирощують її на всіх континентах, практично, в кожній країні, майже в усіх ґрунтово-кліматичних зонах, а при створенні певних умов, навіть, у районах, несприятливих для сільськогосподарського виробництва. Значне її поширення обумовлюється біологічними особли-

Матеріали і методи

Вивчення і підтримання колекційних зразків картоплі у стані життєздатності та генетичної автентичності проводиться згідно загальноприйнятих методик у картоплярстві [5–9]. Загальний обсяг сформованої на станції колекції складає 620 зразків. За біологічним статусом зразки поділяються на селекційні і місцеві сорти.

Ефективність і результативність виконання роботи по збереженню колекцій різних сільськогосподарських культур, зокрема картоплі базується на інформаційному забезпеченні. З цією метою у НЦГРРУ в 1992 р. була розроблена та впроваджена інформаційна система (ІС) «Генофонд рослин», яка постійно вдосконалюється. Метою (ІС) «Генофонд рослин» є забезпечення оперативного доступу користувачів до

Результати та обговорення

Наразі різноманіття картоплі в колекції Устимівської ДСР представлено зразками більш ніж із 30-ти країн. Найбільше сортозразків походить з України і Німеччини по 23 % та Нідерландів – 14,3 %. Дещо менше з Росії – 8,4 %, Білорусі – 6,7 %, Польщі – 4,6 %, Чехії – 3 % та інших країн. Кожен зразок картоплі з колекції дослідної станції є одиницею генофонду, що знаходиться на збереженні і занесений до Національного каталогу генетичних ресурсів рослин України. Вітчизняний і світовий досвід довів, що для збереження генофонду культурних рослин найбільш надійним є створення банків генетичних ресурсів рослин (генбанків). Генбанк забезпечує найбільшу доступність зразків генофонду для використання у селекційних, наукових, освітніх та інших програмах, з метою швидкого вирішення завдань, що виникають у будь-який момент. Генбанк є базою для залучення (інтродукції) нових цінних форм рослин [10].

В Устимівській ДСР сформована паспортна база даних на 620 зразків картоплі у комп'ютерній інформаційній системі (ІС) «Генофонд рослин». Електронна версія паспортної бази даних містить інформацію про цінність зразка, його походження, назву оригінатора, дані про автора (авторів), доступність матеріалу, родовід,

востями і наявністю видів, підвидів, груп різновидностей, форм, зразків, сортотипів, сортів, гібридів і т.п. [3]. Висока адаптивність до умов вирощування спричинила значне поширення культури, як в природі, так і при штучному розмноженні [4].

інформації щодо генетичного різноманіття рослин, яке знаходиться на Устимівській ДСР та в НЦГРРУ.

Основним джерелом поповнення колекції картоплі та інших культур є експедиційні збори. Адже ґрунтово-кліматичні умови різних природних зон позитивно впливають на формотворчі процеси рослин. В результаті 7-ми спільних міжнародних експедицій під керівництвом НЦГРРУ, Всеросійського НДІР ім. М.І. Вавилова за участю співробітників Устимівської ДСР було обстежено та зібрано зразки сільськогосподарських культур, в тому числі і картоплі, в усіх ґрунтово-кліматичних зонах України та значної території Російської Федерації (Республіка Башкортостан, Республіка Карелія, Південний та Центральний Урал та ін.).

біологічний статус, місце збору чи шлях отримання та багато інших цінних даних.

За результатами комплексного вивчення генофонду картоплі щорічно виділяються джерела та донори господарсько-цінних ознак, які передаються користувачам для включення у селекційні, наукові, освітні програми. Тісна співпраця проводиться з Інститутом картоплярства НААН (відділ селекції, лабораторія вихідного матеріалу), Інститутом захисту рослин НААН (лабораторія екологічної генетики рослин та біотехнології), Інститутом рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН (лабораторія генетики, біотехнології та якості біосировинних ресурсів), Сумським національним аграрним університетом (кафедра біотехнології та фітофармакології), Полтавською державною аграрною академією та мережею підпорядкованих їй навчальних закладів. З Київським національним університетом ім. Тараса Шевченка (лабораторія екології та діагностики вірусних захворювань біологічного факультету) виконується робота з проведення ідентифікації збудників вірусних хвороб картоплі, розробки і впровадження рекомендацій щодо діагностування вірусних хвороб та шляхів оздоровлення, виявлення перспективного вихідного матеріалу для селекції та ін.

У результаті багаторічних досліджень сформовано та зареєстровано в НЦГРРУ 5 ознакових колекції картоплі, у яких зразки підібрані за високим рівнем фенотипового прояву окремих ознак або їх поєднання:

- ознакова колекція за урожайністю, що включає 46 зразків з восьми країн світу;
- ознакова колекція картоплі за вмістом крохмалю й технологічними властивостями, що включає 61 зразок з п'яти країн світу;
- робоча ознакова колекція за великобульбовістю, що включає 121 зразок з шістнадцяти країн світу;
- робоча ознакова колекція за стійкістю до вірусних хвороб, що включає 34 зразки з десяти країн світу;
- робоча ознакова колекція картоплі за багатобульбовістю, що включає 31 зразок з семи країн світу.

До вказаних вище колекцій входять зразки з різним рівнем прояву ознак згідно міжнародного класифікатора [9]. Неодмінними елементами ознакових колекцій є еталонні зразки, які мають більш стабільний рівень прояву ознак при порівняно високому продукційному процесі. Ознакові колекції є першим кроком до створення генетичних колекцій [10].

У результаті комплексного вивчення виділено і зареєстровано в НЦГРРУ 11 цінних зразків картоплі: сорт Петровська (Росія) – надраннє формування товарного врожаю (<40 днів після посадки); Зарево (Україна) – сорт-еталон за високим вмістом крохмалю в бульбах (27 %); Явір (Україна) – висока стійкість до фітофторозу (9 балів за 9-ти бальною шкалою стійкості); Фантазія (Україна) – поєднання багатобульбовості (14 шт. товарних бульб на кущ) з підвищеним вмістом крохмалю в бульбах (18,5 %) та хорошими смаковими якостями (4,3 бала); Тирас (Україна) – раннє формування товарного врожаю (<40 днів після садіння), висока врожайність та товарність; Світанок київський (Україна) – високі смакові якості (8,5 балів), підвищений вміст крохмалю в бульбах (20 %); Оберіг (Україна) – висока продуктивність (900 г/кущ), товарність (90 %), великобульбовість (100 г); Багряна (Україна) – висока стійкість до фітофторозу (9 балів за 9-ти бальною шкалою стійкості) та високі смакові якості (4,3 бала); Незабудка (Україна) – стійкий до вірусного скручування листків (збудник вірус-L); Воловецька (Україна) – висока польова стійкість до вірусних хвороб і фітофторозу – 8,5 балів; Червона рута (Україна) – висока польова стійкість до фітофторозу (8 балів) та підвищений вміст крохмалю

в бульбах (19,5 %).

Значне генетичне різноманіття в колекції мають старі і сучасні селекційні сорти картоплі з багатьох країн світу. Певною цінністю характеризуються сорти, створені понад 80–100 років тому. Деякі із них до цього часу вирощуються у різних країнах і використовуються в селекційних програмах. Їх довговічність обумовлена тривалим високим і стабільним проявом багатьох ознак, зокрема: продуктивності, скоростиглості, польової стійкості до вірусних хвороб. Багато з цих сортів використані, як компоненти схрещування при створенні десятків і сотень нових, які вирощувались або вирощуються на даний час. В селекції їх використовують як генетичні джерела і донори таких ознак, як висока продуктивність, крохмалистість, скоростиглість, стійкість до вірусів [11].

Колекція Устимівської дослідної станції рослинництва нараховує низку цінних старих зразків: Aquilla, Schwalbe, Apta, Ella, Achat, Saba, Runo, Adretta (Німеччина); Maris Squire (Велика Британія); Beke, Belinda (Австрія); Veto (Фінляндія); Перлина, Чарівниця, Немішаєвська біла (Україна), Kufri Zqoti (Індія), Buesa (Іспанія), Петровська, Іскра (Росія) та ін.

Сорт Aquilla відзначається стійкістю до раку, фітофторозу, вірусних хвороб і добре передає ці ознаки при схрещуванні. Серед його потомства 52 сорти, більшість із яких ракостійкі, є також стійкі до фітофторозу: Ancilla, Datura, Drossel, Fink, Horsa, Star, Susana, Teho, Zeising, Кандадат, Огонек; до вірусних хвороб: Amsel (відносно стійкий до вірусів L та Y), Drossel (стійкий до вірусу Y і зморшкуватої мозаїки), Fink (стійкий до вірусу L, надчутливий до X), Schwalbe (стійкий до вірусів L, Y), Star (стійкий до L і мозаїчних вірусів), Zeisig (стійкий до вірусу L, надчутливий до X).

Потомство сорту Schwalbe складає 24 сорти. Значній кількості сортів, батьківською формою яких є Schwalbe властива стійкість до вірусних хвороб: Adretta, Binova, Galina, Lardia, Karsa, Mariella, Specula, Turbella, Xenia та ін. Сорти, створені на основі Schwalbe є подібними за морфологічними ознаками і увійшли в сортотип Adretta: Adretta = (Apta x Stamm x Schwalbe) x (Axilia x Stamm); Binova = Bintje x Schwalbe; Elgina = (Saskia x Schwalbe) x (Apta x Stamm); Kardia = [(Stamm x Apta) x Ora] x Schwalbelibelle; Mariella = Eva x Schwalbe.

Потомство сорту Apta складається з 13 сортів. Сорт Ora, створений із залученням сорту Capella і використовувався при селекції високопродуктивних сортів – Antares, Galina, Leander,

Turbella, Темп та ін. [12].

Сорти вітчизняної селекції займають гідне місце серед сортових ресурсів картоплі країни. Більшість з них відзначається підвищеним вмістом сухих речовин і крохмалю, що великою мірою визначає смакові якості бульб. Вагомих успіхів досягнуто вітчизняними селекціонерами у створенні висококрохмалистих сортів: Кобза, Світанок київський, Обрій, Придеснянська, Дзвін, Фантазія та інші.

Традиційно населення України надає пе-

Висновки

В результаті проведених багаторічних досліджень сформовано колекцію картоплі в кількості 620 зразків. Усі зразки занесено до паспортової бази даних Національного центру генетичних ресурсів рослин України і включено до баз даних Європейського міжнародного каталогу з генетичних ресурсів рослин EURISCO. Сформовано і зареєстровано у НЦГРРУ 5 ознакових колекцій та 11 цінних зразків, виділено джерела господарсько-цінних ознак, які передано до науково-дослідних установ України з метою подальшого включення в селекційні та наукові програми по картоплярству.

Генетичний потенціал картоплі далеко не

ревагу сортам картоплі з відмінними та добрими смаковими якостями. Найвищим проявом ознаки характеризувалися сорти: Світанок київський, Кобза, Придеснянська, Либідь, Луговська, Поліська рожева, Горлиця, Пост 86, Обрій, Українська рожева, Зарево, Ікар та ін. Особливістю переважної більшості сортів білоруської селекції є високий вміст крохмалю у бульбах. Кращими за даною ознакою є наступні сорти, які включені до ознакової колекції: Атлант, Виток, Сузор'є, Темп, Здабитак.

вичерпаний. При створенні нових сортів важливо приділяти велику увагу екологічному вивченню, виявляти їх придатність до вирощування в різних ґрунтово-кліматичних зонах, від чого буде залежати їх подальше успішне впровадження у виробництво. Подальші наукові дослідження по картоплі на Устимівській дослідній станції рослинництва спрямовуються на збагачення і всебічне вивчення колекції даної культури, з метою формування різновидів ознакових колекцій: спеціальних, робочих та колекцій інших типів (базові, серцевинні, навчальні, генетичні та ін.) та забезпечення доступу до них через інформаційну систему «Генетичні ресурси».

Література

1. Харченко Ю.В., Чигрин А.В., Бондус Р.О. Формування та вивчення колекції картоплі на Устимівській дослідній станції рослинництва: аспекти та пріоритети досліджень // Генетичні ресурси. – Харків, 2009. – № 7. – С. 22–35.
2. Харченко Ю.В., Чигрин А.В., Бондус Р.О. Вивчення стійкості зразків картоплі до біотичних і абіотичних чинників в умовах Устимівської дослідної станції рослинництва // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2009. – № 1. – С. 34–42.
3. Подгаєцький А.А. Характеристика генетичних ресурсів картоплі та їх практичне використання // Генетичні ресурси рослин. – 2004. – № 2. – С. 103–110.
4. Росс Х. Селекция картофеля: проблемы и перспективы / Х. Росс. – М.: Агропромиздат, 1989. – 111 с.
5. Литвинов Л.С. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям. Методическое руководство / Л.С. Литвинов. – Л.: ВИР, 1988. – 226 с.
6. Методичні рекомендації щодо проведення досліджень з картоплею. – Немішаєве, ІК, 2002. – 183 с.
7. Методические рекомендации по проведению исследований с картофелем. – К.: УНИИСХ, 1983. – 216 с.
8. Методические указания. Выделение исходного материала для селекции картофеля на основе генеалогии. – Санкт-Петербург, 1992. – 105 с.
9. Международный классификатор СЭВ видов картофеля секции *Tuberarium* (Dun.) Buk. рода *Solanum* L. – Ленинград, 1984. – 43 с.
10. Рябчун В.К. Система генетичних ресурсів рослин України // Генетичні ресурси рослин України. – 2004. – №1. – С. 8–15.
11. Будин К.З. Генетические основы селекции картофеля / К.З. Будин – Л.: Агропромиздат, 1986. – 192 с.
12. Maxted N., Ford-Floyd B.V., Hawkes J.G. Complementary conservation strategies. // Plant Genetic Resources Conservation. – London: Chapman & Hall, 1997. – P. 15–39.

BONDUS R.O., KHARCHENKO YU.V.

Ustimivka Experimental Station of Plant Production Plant Production Institute nd. a. V.Y. Yuriev NAASU Ukraine, 39074, Poltava region, Globyno district, v. Ustimivka, e-mail: udsr@ukr.net

ANALYSIS AND EVALUATION OF GENETIC RESOURCES POTATO ON USTIMOVKA EXPERIMENTAL STATION OF PLANT PRODUCTION

Aims. Storing, updating and genetic study of a collection of potatoes. Vyd-ing sources of agronomic traits, forming attribute and other collective practical selection for this use. **Methods.** Learning and maintaining co-lecture samples potatoes in a state of viability and genetic authenticity conductivity reproduced by conventional methods in potato. Information system (IS) «Gene pool plant» provides online access to information about users of the genetic diversity of plants, including potatoes, which is Ustimovka Experimental Station of Plant Production and NCPGRU entre. **Results.** Variety collection potatoes Ustimovka Experimental Station of Plant Production presented samples of 30 countries. For biological status of potato samples to share yutsya local and selected varieties. The whole volume collection of potatoes (620 samples) SFO-rmovana passport database. **Conclusions.** Formed and registered in NCPGRU 5 feature collections and 11 valuable samples isolated source of agronomic traits that are transmitted to the scientific institutions of Ukraine with a view to their inclusion in breeding programs potato.

Key words: potato gene pool of plants, collection, introduction, varieties, sources of state-implicitly-valuable traits.

БУБЛИК О.М., АНДРЕЄВ І.О., ПАРНІКОЗА І.Ю., ТРОЇЦЬКА Т.Б., КУНАХ В.А.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Україна, 03680, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: o.m.bublyk@imbg.org.ua

КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА СТАНУ ПОПУЛЯЦІЙ *IRIS PUMILA* L. УКРАЇНИ

Iris pumila L. (*Iridaceae*) – декоративний та селекційно-цінний вид, типовий степовий ксерофіт флори України, первинний ареал якого на території України, ймовірно, охоплював всю степову і південь лісостепової зони, а також гірського Криму. Внаслідок тотального розорювання степів (кінець XVIII ст.) ареал виду зазнав значного скорочення і фрагментації. Наразі популяції виду піддаються значному антропогенному навантаженню, що за останні десятиріччя викликало зменшення чисельності окремих локалітетів. *I. pumila* охороняється на території ряду областей України.

Метою роботи було вивчення наслідків фрагментації ареалу та ізоляції для популяцій

I. pumila та визначення показників, які можуть стати своєчасним сигналом загрози зникнення виду. Сучасний підхід до оцінки загрози генетичної ерозії поряд із аналізом низки таких традиційних показників як рівень внутрішньовидової диференціації (наявність рас, екотипів або підвидів); розмір популяцій, їх кількість та ізоляція; екологічна амплітуда; частота статевого розмноження, передбачає також безпосередній аналіз генетичного поліморфізму за маркерними локусами (ізоферментними або ДНК) [1]. Тому для характеристики стану природних популяцій *I. pumila* ми поєднали еколого-популяційні дослідження разом із ISSR-аналізом генетичного різноманіття.

Матеріали і методи

Об'єкт дослідження – чотири популяції *I. pumila* з території України (рис.1). Три з них розташовані в степовій зоні (Миколаївська обл.): 1) місцезростання в умовах виходів гранітів на ділянці ковилово-різнотравного степу (околиці с. Мигія, Первомайський район); 2) місцезростання в умовах ковилово-кринітарієвого степу, схил західної експозиції (10°) надзаплавної тераси р. Інгул (півострів Аляуди м. Миколаїв); 3) місцезростання в умовах ковилово-злаково-

різнотравного степу, верхня частина схилу степової балки північної експозиції, 15° (ок. с. Коларово, Жовтневий р-н). Четверта популяція знаходилася на південному краю лісостепової зони і зростала на ділянці лучного степу за участі ковили волосистої, верхня третина схилу річкової пойми південно-східної експозиції 10-15° (ок. с. Андріївка, Полтавський р-н, Полтавська обл.).



Рис. 1. Місце локалізації досліджених популяцій *I. pumila*:

- 1 – околиці с. Мигія (Первомайський район Миколаївської обл.);
- 2 – півострів Аляуди (м. Миколаїв);
- 3 – околиці с. Коларово (Жовтневий р-н Миколаївської обл.);
- 4 – околиці с. Андріївка (Полтавський р-н Полтавської обл.)

Вивчали показники, що можуть свідчити про розвиток генетичної ерозії у виду: зокрема таксономічну цілісність *I. pumila* та еколого-популяційні показники, що характеризують стан популяції. Серед популяційних показників вивчали чисельність, вікову структуру популяції з використанням підходів [2] та наявність насінневого та вегетативного поновлення. Особливу увагу звертали на наявність несприятливих факторів довкілля: випасу, палу, викопування окремих рослин.

Для молекулярно-генетичного аналізу використали 40 рослин *I. pumila* (по 9-11 рослин з популяції). ДНК виділяли із сухого матеріалу за допомогою ЦТАБ за [3]. Для ПЛР-аналізу застосували 7 ISSR-праймерів: ISSR-03 – (AC)₈TT; ISSR-05 – (AC)₈TG; ISSR-59 – (AG)₈GC; UBC#810 – (GA)₈T; UBC #811 – (GA)₈C; UBC #835 – (AG)₈YC; UBC #840 – (GA)₈YT (Y=C,T). Реакційна суміш для ПЛР об'ємом 20 мкл містила: 20 нг ДНК, 0,2 мМ дНТФ, 1,25 U Taq-полімерази, 1 × (NH₄)₂SO₄ буфер (Fermentas, Литва), 2 мМ MgCl₂, 1 мкМ праймера, 15 мкл мінеральної олії. Як негативний контроль використовували стандартну реакційну суміш без ДНК. ПЛР проводили в термоциклері Терцик МС2 («Біотехнологія», Росія) за такого режиму: 95°C

Результати та обговорення

I. pumila має значну варіабельність за кольором квітки та морфологією рослини, зустрічаються особини з вужчими та ширшими листками, більш ранньо- і пізньо-квітучі форми. Однак, незважаючи на спроби виділити у виду форми або раси, ступінь їх відмінностей та відповідність таксономічній категорії рангу підвиду викликає питання. На території України виділяють підвиди *I. pumila* ssp. *taurica* (Lodd.) Rodion. et Schewcz в Криму та *I. pumila* ssp. *aequiloba* (Ledeb.) Baker на решті території. Але на прак-

– 2 хв., 35 × (94°C – 20 с, 53°C – 30 с, 72°C – 90 с), 72°C – 5 хв.

Продукти ПЛР фракціонували електрофорезом в 1,5 % агарозному гелі в буфері 0,5×TBE і візуалізували забарвленням бромистим етидієм. Електрофореграми представляли у вигляді бінарних матриць, на основі яких з використанням програм FAMD та GenAlEx розраховували генетичні відстані Жакарда між рослинами, частку поліморфних ампліконів (P), індекс Шеннона (S), генну різноманітність Нея (очікувану гетерозиготність Ne), а також генетичні відстані між популяціями за Неєм. Генетичну структуру популяцій аналізували в програмі Structure 2.3.4 за моделлю, що допускає змішане походження особин і передбачає кореляцію частот алелей у батьківських популяціях (K), та без урахування приналежності особин до географічних популяцій. Для визначення найбільш вірогідного числа K виконали серію аналізів з K від 1 до 7 (20 повторностей на K), з періодом припрацювання 50000 і 300000 ітераціями. Розподіл загальної генетичної мінливості між регіонами (Миколаївська та Полтавська обл.), популяціями та в їх межах вивчали методом аналізу молекулярної дисперсії (AMOVA).

тиці в ботанічних роботах для цього регіону вид зазвичай подають просто як *Iris pumila*. Так само цей вид проходить у конспекті рослин Криму [4]. Це дає підставу стверджувати про низький рівень внутрішньовидової диференціації.

Ще одним показником успішності виду може слугувати ступінь фрагментованості ареалу. Ареал *I. pumila* на сьогодні представлений степовими ділянками різного розміру, які відділені одна від одної інколи значними проміжками. Це добре ілюструють популяції у с. Коларо-

во та на півострові Аляуди, які є фрагментами колишнього суцільного поширення виду на надзаплавних терасах р. Інгул. Популяція в районі с. Андріївка є одним з останніх локалітетів виду в межах Лісостепу.

Популяційне дослідження показує викликане поступовим звуженням зони поширення зменшення кількості особин у популяціях. Популяції Аляуди та Коларово наразі малочисельні, представлені кількома десятками екземплярів. Подібною є і популяція в околицях с. Андріївка. Популяція с. Мигія за рахунок розташування в умовах розсіченого рельєфу та виходів граніту нараховує більше 1000 особин, але господарська діяльність викликала зменшення і цього локалітету.

Аналіз вікового складу свідчить про переважання в популяціях зрілих генеративних особин. Генеративне відновлення, очевидно, залежить від умов і спостерігається лише в сприят-

ливих періодах, що значно обмежує можливість поновлення популяції молодими особинами. Таким чином, стратегія популяції виду спрямована на тривале переважання генеративних особин із спорадичним генеративним поновленням у сприятливих роках.

Серед антропогенних факторів, під впливом яких знаходяться популяції *I. pumila*, слід перш за все відзначити весняні пали і випас, які діють на популяції виду регулярно. Особливо небезпечним є весняний пал. Дана обставина також пояснює раніше вказану особливість вікового спектру популяції виду.

Для генетичного аналізу рослин *I. pumila* використали підібрані раніше ISSR-праймери, які давали багаті високополіморфні спектри продуктів ампліфікації. На рис. 2 як приклад наведено типову електрофореграму, що демонструє різноманіття профілів ПЛР-продуктів окремих рослин.

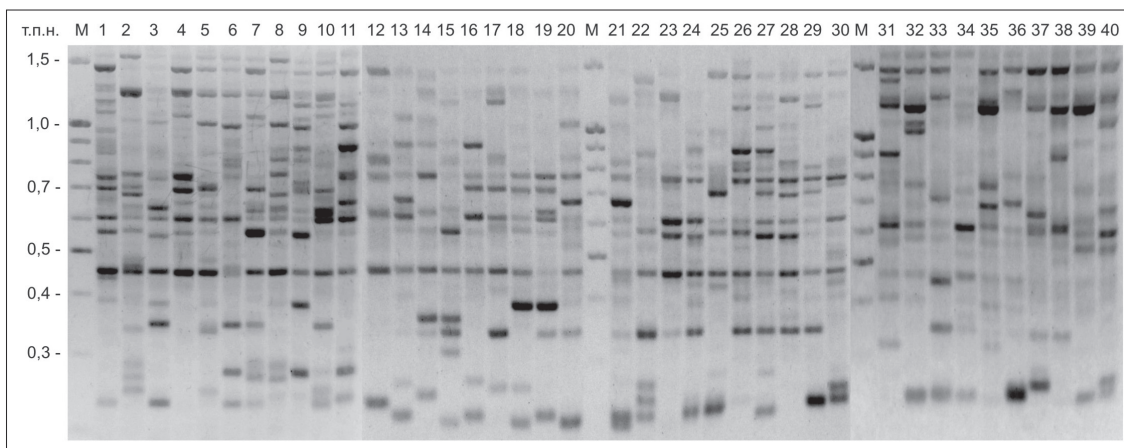


Рис. 2. Поліморфізм спектрів ПЛР-продуктів *I. pumila* (ISSR-праймер UBC #840): 1–11 – рослини з популяції «Мигія»; 12–20 – «Аляуди»; 21–30 – «Коларово»; 31–40 – «Андріївка»; М – маркер молекулярної маси «100 bp Ladder»

Для загальної вибірки рослин з усіх популяцій було враховано 194 фрагменти, 97,9 % з них були поліморфними у межах всієї вибірки, для окремих популяцій цей показник коливався від 48,5 % (Коларово) до 63,4 % (Мигія) (табл.). На підставі отриманої бінарної матриці розраховали основні показники генетичного поліморфізму популяцій *I. pumila* (таблиця). Їх значення були досить високими і виявилися близькими для окремих популяцій. Порівняння власних та літературних даних показало, що рівень генетичного різноманіття у *I. pumila* подібний або перевищує такий у інших видів роду [5, 6]. Це може свідчити про відсутність наближеної загрози втрати генетичного різноманіття.

Популяція поблизу с. Мигія має дещо ви-

щі значення показників генетичного поліморфізму. Можливо це пов'язано з більшим розміром цієї популяції – понад тисячу особин, тоді як у решті розмір становить лише 40–200 особин. Відомо, що рівень генетичного поліморфізму позитивно корелює з розміром популяції. Разом з тим, за нашими даними, навіть малочисельні популяції *I. pumila* з обмеженим ареалом зберегли високий рівень генетичного поліморфізму.

Популяція в околицях с. Андріївка знаходиться практично на північній межі ареалу виду в Україні. За існуючими уявленнями, генетичний поліморфізм в периферичних популяціях може бути нижчим, порівняно з центральними, за рахунок менш сприятливих умов для розмноження і виживання та генетичного дрейфу.

Таблиця. Основні показники генетичного поліморфізму популяцій *I. pumila* за даними ISSR-аналізу

Популяція	Враховано ампліконів, шт.	Частка поліморфних ампліконів (P), %	Незміщена генна різноманітність Нея (очікувана гетерозиготність H_e)	Індекс Шеннона (S)	Генетичні відстані між рослинами за Жакардом (D_j), %	Середня генетична відстань між рослинами за Жакардом (D_j), %
Мигія	135	63,4	$0,171 \pm 0,012$	$0,261 \pm 0,017$	43,5 – 75,6	61,2
Аляуди	112	50,5	$0,135 \pm 0,012$	$0,205 \pm 0,017$	44,1 – 70,4	57,5
Коларово	113	48,5	$0,122 \pm 0,012$	$0,189 \pm 0,016$	38,3 – 63,5	51,5
Андріївка	107	49,5	$0,127 \pm 0,012$	$0,195 \pm 0,017$	43,8 – 72,1	60,0
У середньому	117	52,9	$0,139 \pm 0,006$	$0,212 \pm 0,008$	38,3 – 75,6	57,6
Сумарна матриця	194	97,9	$0,171 \pm 0,011$	$0,287 \pm 0,014$	38,3 – 83,8	69,2

Ці популяції часто менші за розміром, фрагментовані, ізольовані, генетично диференційовані між собою. З іншого боку, дестабілізуючий добір, обумовлений підвищеною мінливістю умов довкілля на краю ареалу, може інколи підвищувати генетичну мінливість граничних популяцій [7]. Незважаючи на це, нам не вдалося виявити відмінностей популяції «Андріївка» від популяцій із центральної частини ареалу за рівнем генетичного поліморфізму.

Рослини з популяцій «Аляуди» та «Коларово» виявилися спорідненими за генетичними відстанями Жакарда – на дендрограмі вони увійшли до одного кластера, тоді як рослини з популяцій «Мигія» та «Андріївка» сформували окремі кластери. Популяції «Аляуди» і «Коларово» також найбільш подібні за частотами алелей, генетична відстань за H_e між ними має найменше значення. Це свідчить про позитивну залежність генетичної подібності популяцій від просторового розміщення (відстань між «Аляуди» та «Коларово» 1,5 км, решта попарних географічних відстаней вимірюються в сотнях кілометрів). Очевидно, лише на такій відстані можливий активний обмін генетичним матеріалом між популяціями шляхом перезапилення комахами та поширення насіння. Аналіз генетичної структури популяції підтвердив спільне походження популяцій «Аляуди» і «Коларово», а також виявив у них дві особини, що містять у досить високій кількості генетичний матеріал з популяції «Мигія» (8,5 і 5,4 %), а також присутність в популяції «Мигія» особини, фракція геному якої розміром 14,0 % належала генофонду об'єднаної популяції «Аляуди-Коларово». Популяція «Андріївка» була більш обособленою (одна особина містила 2,9 % генетичного матеріалу з «Мигії»), що підтверджує позитивну за-

лежність генетичної та географічної близькості популяцій. Разом з тим, слід зауважити, що генетичний матеріал спільного походження в залишкових кількостях містили всі особини. Це може свідчити про вільний обмін генетичною інформацією у минулому, до фрагментації ареалу.

Генетична мінливість *I. pumila* зосереджена головним чином всередині популяцій, диференціація між популяціями та регіонами є порівняно низькою, незважаючи на значні географічні відстані між ними. За результатами AMOVA, на відмінності між популяціями припадає лише 21 % загальної генетичної мінливості, тоді як внутрішньопопуляційний поліморфізм становить 79 %. Такий розподіл є типовим для перехреснозапильних видів, до яких належить *I. pumila*. В іншому ієрархічному аналізі, при додатковому врахуванні двох регіонів: Миколаївської та Полтавської областей, генетичне різноманіття розподілилося наступним чином: між регіонами – 8 %, між популяціями – 17 %, у межах популяцій – 75 %.

Виявлена різниця в результатах вивчення популяційно-екологічних параметрів, за якими *I. pumila* проявляє ознаки генетичної ерозії, та молекулярно-генетичного дослідження, що свідчать про високе генетичне різноманіття виду та слабку дивергенцію віддалених ізольованих популяцій, в тому числі і периферичних, може мати логічне пояснення. Фрагментація та скорочення ареалу *I. pumila* відбувалися досить швидко, впродовж одного-двох століть від початку інтенсивного господарського освоєння півдня України в другій половині XVIII ст. Цілком можливо, що цього часу виявилось недостатньо для втрати сучасними ізольованими популяціями генетичного різноманіття і їхньої диверген-

ції. В такому випадку, виявлений нами високий рівень генетичного поліморфізму найвірогідніше зберігся з часів існування єдиного ареалу виду. Збереження генетичного різноманіття малочисельними ізольованими популяціями *I. pumila* свідчить про те, що вид поки що має генетичні ресурси, здатні забезпечити відновлення популяцій у разі створення сприятливих умов. Однак, подальше скорочення ареалу та збільшення антропогенного тиску безперечно

Висновки

Аналіз низки таких показників загрози генетичної ерозії, як рівень внутрішньовидової диференціації; розмір популяцій, їх кількість та ізоляція; екологічна амплітуда; частота статевого розмноження, свідчить про те, що *I. pumila* на території України можна віднести до регресуючого виду, якому загрожує генетична ерозія. Поряд з цим, результати ISSR-аналізу чотирьох популяцій з Миколаївської та Полтавської областей виявили достатньо високий рівень генетич-

рано чи пізно призведе до значного скорочення чисельності виду на території України.

У цілому ж проведено дослідження свідчить про необхідність застосування до оцінки загрози зникнення конкретного виду комплексного підходу, який крім популяційно-екологічних показників включає оцінку генетичного різноманіття з використанням молекулярних маркерів.

ного різноманіття навіть в малочисельних популяціях та слабку дивергенцію віддалених ізольованих популяцій. Отримані дані свідчать про те, що скорочення та фрагментація ареалу *I. pumila* в першу чергу супроводжуються погіршенням еколого-популяційних показників, а збіднення генофонду популяцій відбувається повільніше. Отже, ефективне визначення загрози генетичної ерозії потребує оцінки комплексу параметрів.

Література

1. Brown A.H.D., Brubaker C.L. Indicators for sustainable management of plant genetic resources: How well are we doing? / Engels J.M., Ramanatha Rao V., Brown A.H.D., Jackson M.T. (eds.) *Managing Plant Genetic Diversity*. – Wallingford, UK: CABI Publishing, 2002. – P. 249–262.
2. Діденко І.П., Швець Т. А. Особливості онтогенезу *Iris pumila* L. / *Мат. наук. конф. «Біологія: від молекули до біосфери»*. – Харків, 2009. – С. 246–247.
3. 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.
4. Ена А. В. Природная флора Крымского полуострова. – Симферополь: Н.Орианда, 2012. – 232 с.
5. Wroblewska A., Brzosko E. The genetic structure of the steppe plant *Iris aphylla* L. at the northern limit of its geographical range // *Bot. J. Linn. Soc.* – 2006. – Vol. 152, N2. – P. 245–255.
6. Kozyrenko M.M., Artyukova E.V., Zhuravlev Yu.N. Independent species status of *Iris vorobievii* N.S. Pavlova, *Iris mandshurica* Maxim., and *Iris humilis* Georgi (Iridaceae): Evidence from the nuclear and chloroplast genomes // *Russ. J. Genet.* – 2009. – Vol. 45, N 11. – P. 1394–1402.
7. Safriel N.U., Volis S., Kark S. Core and peripheral populations and global climate change // *Isr. J. Plant Sci.*. – 1994. – Vol. 42. – P. 331–345.

BUBLYK O.M., ANDREEV I.O., PARNIKOZA I.Yu., TROICKA T.B., KUNAKH V.A.

Institute of Molecular Biology and Genetics of Natl. Acad. Sci. of Ukraine

Ukraine, 03680, Kyiv, Akad. Zabolotnoho str., 150, e-mail: o.m.bublyk@imbg.org.ua

COMPREHENSIVE EVALUATION OF *IRIS PUMILA* L. POPULATIONS STATUS IN UKRAINE

Aims. *Iris pumila* L. (Iridaceae), typical steppe xerophyte, which is protected in several regions of Ukraine. Area of the species range has suffered a significant decline and fragmentation over the recent centuries. The comprehensive population studies were conducted to elucidate the effects of these processes and determine the indices that can be used as well-timed signals of species extinction risk. **Methods.** Ecological and population studies were combined with ISSR-analysis of genetic diversity to characterize the populations of *I. pumila*. **Results.** A number of population and ecological indicators suggests that *I. pumila* in Ukraine may be referred to regressive species threatened by genetic erosion. Moreover, the results of ISSR-analysis of plants from four populations in Mykolayiv and Poltava regions showed relatively high levels of the species genetic diversity and weak divergence of isolated populations. **Conclusions.** The reduction and fragmentation of *I. pumila* habitat first of all is accompanied by decline in ecological and population indicators, but depletion of the populations' gene pool occurs much slower. To adequately determine the risk

of genetic erosion in particular species, apart from assessment of population and ecological indicators, evaluation of species genetic resources using molecular markers is needed.

Keywords: genetic resources, *Iris pumila* L., population studies, PCR markers, threatened species.

ВАСИЛЬЕВ В.С.

Харьковская государственная зооветеринарная академия

Украина, 62341, Харьковская обл., Дергачевский р-н, п. Малая Даниловка, ул. Академическая 5,

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СПЕРМЫ МЕТОДАМИ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Широкомасштабная селекция животных, с необходимыми хозяйственно полезными признаками, в современных условиях не возможна без вспомогательных репродуктивных технологий [1]. Важное значение в воспроизведении животных имеет объективная оценка качества спермы. Для этих целей наиболее перспективно применение методов интерференционной микроскопии. Интерференционный биологический микроскоп позволяет наблюдать живые, не ок-

рашенные клетки с хорошим контрастом и проводить количественные измерения концентрации вещества, определять различные дефекты строения клеток, сухую массу, количество ДНК, белка в них [2]. Низкое качество спермы, снижение подвижности спермиев, как правило, связано с дефектами шейки, средней части, хвоста спермиев и т.д. [3]. Изучение различных дефектов клеток в эякулятах позволяет объективно оценивать качество спермы.

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, 4].

Результаты

Хорошие условия для наблюдения под микроскопом образцов нативной или технологически обработанной спермы, мазков спермы создает дифференциальный интерференционный контраст (ДИК) при увеличении в 200–400 раз в однородном интерференционном сером, желто-коричневом или голубом цветах. На рис. 1 представлено изображение образца нативной спермы хрякав ДИК на сером фоне. Небольшое раздвоение изображений в доли микрометра, создает стереоэффект, оттеняющий изображение каждой клетки и позволяющий с хорошей контрастностью изучать нормальные и патологические формы спермиев.

С помощью интерференционной микроскопии определяли частоту различных дефектов в строении спермиев, измеряли размеры, сухую массу головок спермиев, количество ДНК и белков в них [2]. Учитывались возраст, порода животных, влияние генотипических и фенотипических факторов на качество спермы. Воспроизводительные способности племенных быков оценивали по результатам оплодотворения коров после первого осеменения.

В случае большого раздвоения (рис. 2), изображения каждой клетки, в которых фазы колебаний световых волн сдвинуты относительно фона на одинаковые величины, окрашены в разные интерференционные цвета. Сдвиг фазы в изображении тем больше, чем больше толщина и концентрация вещества в клетке. Измеряя сдвиг фазы световых волн, прошедших через клетку, зная размер клетки можно рассчитать сухую массу клетки, распределение концентрации вещества в клетке, показатель преломления и другие количественные характеристики клеток [2].



Рис. 1. Изображение спермиев хряков дифференциальном интерференционном контрасте в сером фоне

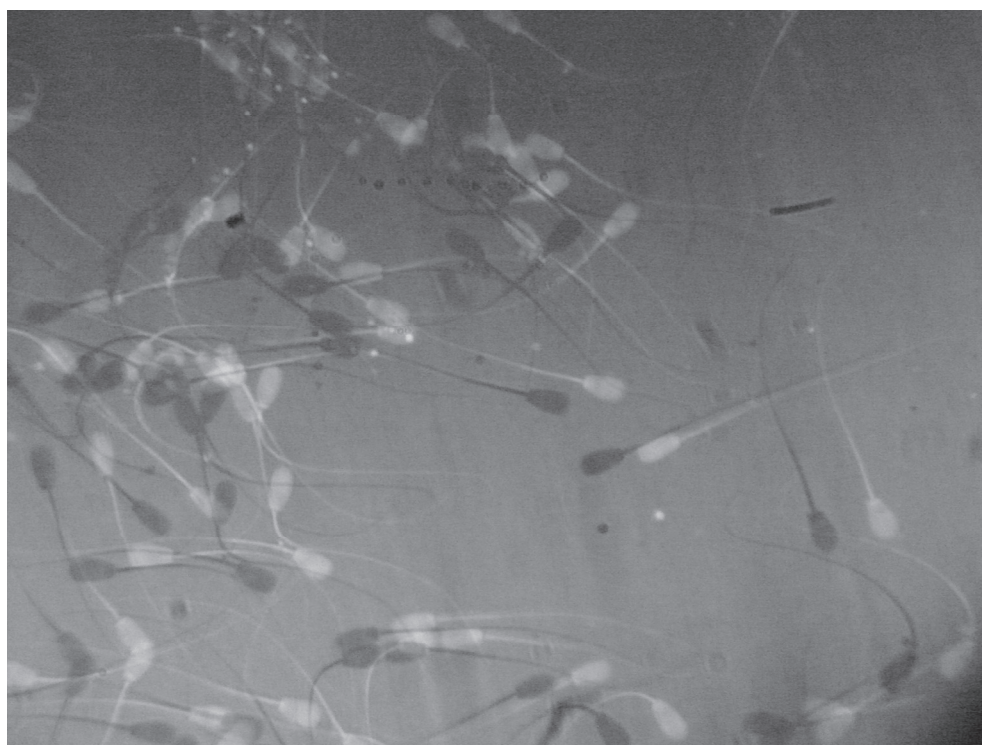


Рис. 2. Большое раздвоение изображений спермиев в пробе размороженной спермы быка в однородном сером интерференционном цвете

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 [2, 4]. 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 [2], 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 (7,1–9,3пг); 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 (1,9–3,4пг); для 6 индюков – 3,7 пг (2,4–4,6 пг); для 87 мужчин – 7,26 пг (5,8–8,7 пг) (табл. 1). 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 [5].

Таблица 1. Содержание сухого вещества в спермиях млекопитающих и птиц

Вид	Число пациентов	Сухая масса головок, пг	Рассеяние (дисперсия), пг	Коэффициент вариаций, C_v , %
Человек	87	7,26	5,8-8,7	6,5
Быки	130	8,67	7,61-9,93	5,2
Хряки	26	8,78	7,1-9,3	6,0
Бараны	12	8,39	7,4-8,9	6,2
Кобели	15	6,24	5,3-7,2	9,8
Петухи	5	2,59	1,9-3,4	17,3
Индюки	6	3,7	2,4-4,6	12,2

Вариабельность сухой массы головок спермиев также может характеризовать качество спермы. Результаты экспериментов показали, что в исследованных эякулятах быков коэффициенты вариаций сухой массы головок спермиев были в пределах от 2,6 % до 18,3 % и характеризовали качество спермы, поскольку, чем больше дефектов структуры клеток, чем выше вариабельность количественных показателей, тем хуже сперма [6]. Аналогичные закономерности наблюдались и для спермы других животных и человека [7].

Коэффициент вариабельности сухой массы головок спермиев является интегральным показателем качества спермы и пропорционален частоте дефектов спермиев в эякуляте, поскольку различные дефекты увеличивают дисперсию размеров и сухой массы клеток. Для 101 исследованного быка найдено, что с увеличением коэффициента вариации сухой массы головок спермиев увеличивается брак спермы по активности и концентрации (рис. 3).

Коэффициент корреляции между вариабельностью сухой массы головок спермиев и процентом брака, по нашим данным, достаточно высокий и равен 0,742. Спермии из эякулятов высокого качества, как узкоспециализированные клетки, имеют невысокие коэффициенты вариаций сухой массы головок: от 2,6 до 6 %. Более высокая вариабельность, как правило, связана с большой частотой различных дефектов в строе-

нии спермиев, несоответствием режимов использования, содержания и кормления животных с физиологическими нормами, с аномальным сперматогенезом и другими причинами. Большая часть быков с высокой вариабельностью сухой массы спермиев была выбракована из-за низкого качества спермы.

Детальный анализ спермограмм показал, что с помощью ДИК и метода однородного интерференционного поля с большим раздвоением, под интерференционным микроскопом можно наблюдать неокрашенные мазки спермы или живые клетки и определять дефекты спермиев с оптическим разрешением порядка 0,3мкм. В интерференционном микроскопе различимы дефекты спермиев, классифицируемые по Э. Блему [8]: мажорные дефекты – дегенеративные, двойные формы, пуговичная акросома, подвижный отдельный хвост, диадема головки, грушеобразные головки, зауженное основание, аномальный контур, маленькие аномальные головки, отдельные патологические головки, штопорообразный митохондриальный чехлик, укороченная средняя часть, проксимальная капелька, псевдокапелька, Даг дефект; минорные – узкие головки, маленькие нормальные головки, гигантские и широкие короткие головки, отдельные нормальные головки, неосевое прикрепление, дистальная капелька, простой излом хвоста, кольцеобразный хвост.

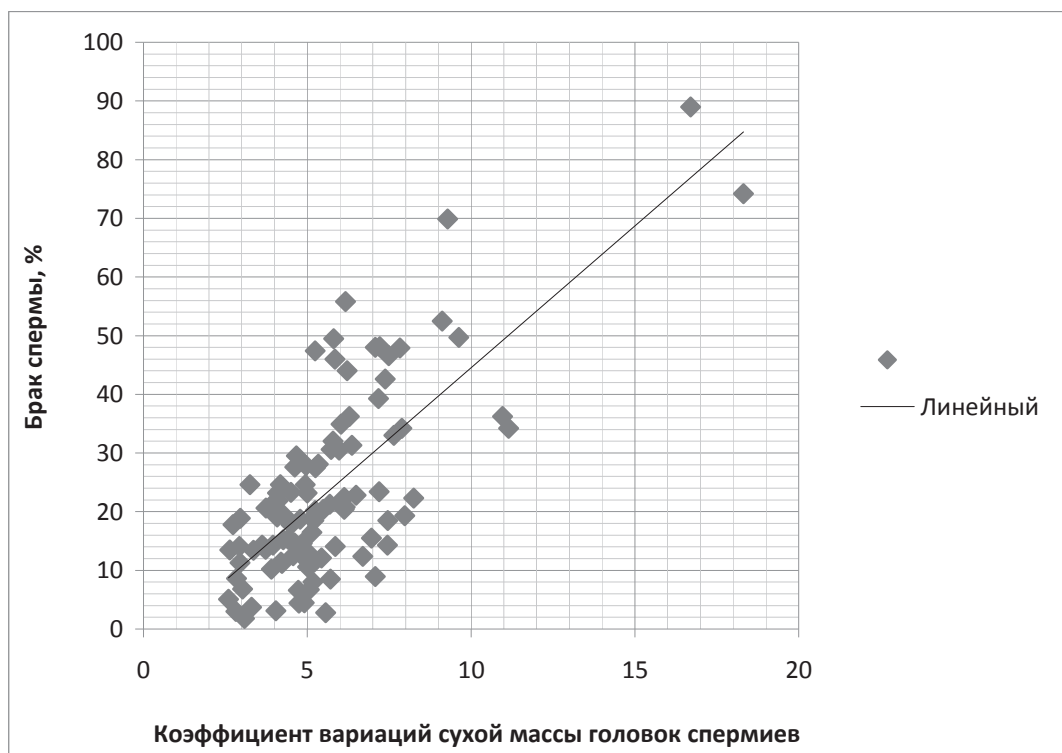


Рис. 3. Взаимосвязь брака спермы с вариациями сухой массы головок спермиев

В эякулятах могут присутствовать эпителиальные клетки, эритроциты, лейкоциты и другие. Кроме этого, в интерференционном контрасте дополнительно разрешаются дефекты: неравномерное распределение хроматинового материала в головках, мембран акросомы, шейки, средней части и другие.

При облучении проб спермы электромагнитными волнами, лазерными лучами разных длин волн, 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. Реабилитирующее действие лазерного и микроволнового излучений проявлялось при воздействии на размороженную сперму – эффект был более выражен для проб с низким качеством спермы [9]. Морфология спермиев после облучения не изменялась.

Выводы

Количественный анализ спермограмм – учет частоты различных дефектов, распределения числа спермиев по фракциям подвижности, размеров, сухой массы, количества ДНК, отношения ДНК/белок в спермиях, наряду с традиционными показателями, позволяет с высокой достоверностью оценивать качество каждого эякулята и плодовитость самцов. Дифференци-

альный интерференционный контраст и метод однородного интерференционного поля с большим раздвоением позволяют, аналогично методам сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии, с хорошим разрешением изучать ультраморфологию спермиев для оценки качества спермы.

Литература

1. Осташко Ф.И. Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота. – К.: Аграрна наука, 1995. – 182 с.
2. 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.
3. Bath A.D., Oke R.J. Abnormal morphology of bovine spermatozoa // Iowa State University Press. – 1989. – 281 p.
4. 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.И. Крамар, Н.Н. Чуб, Л.И. Луцкая // Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных: Сб. науч. Тр. 17 / ХНАУ; ХГЗВА. - Х., 2009.

– С. 131–139.

5. Васильев В.С. Спермограмма как показатель качества спермы // Підвищення продуктивності сільськогосподарських тварин: Зб. наук. Праць / ХНАУ; ХЗВИ. – Х., 2001. – 126 с.
6. Васильев В.С., Раковский Я.П., Лисиченко Н.Л., Беликов А.А. Оценка количества «мусорной» ДНК в спермиях животных методами интерференционной микроскопии // Науковий вісник НУБП України. – К., 2011. – Вип. 160, Ч. 2. – С.281–285.
7. Васильев В.С., Хохлов А.М., Васильева О.В. Количество ДНК в спермиях быков и оплодотворяемость коров // Достижения і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук.пр. / НАН України. – К.: Логос, 2012. – С. 228–232.
8. Blom E. Sperm morphology with reference to bull infertility // First All-Indian Symp. Anim. Rehrod. Ludhiana?. – 1977. – P. 61–81.
9. Васильев В.С., Васильева Л.И., Лисиченко Н.Л., Крамар М.Й., Юрченко Г.Г. Интерференционная микроскопия облученной спермы // Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных: Сб. науч. Тр. 15 / ХНАУ; ХГЗВА. – Х., 2005. – С. 157–160.

VASILEV V.

Kharkov state zooveterinary academy

Ukraine, 62341, Kharkiv region, Dergachevsky district, v. Malaya Danylivka, Akademichna str., 5

EVALUATION OF SPERM QUALITY INTERFERENCE MICROSCOPY TECHNIQUES

Aims. Objective evaluation of the quality of sperm is important in animal reproduction. **Methods.** Morphological and functional indices of animal and human spermatozoa with the help of microscopy interference have been studied. **Results.** Mean value of dry mass of head spermatozoa of bull's is 8,67 pg, of boars – 8,78 pg, of rams – 8,39 pg, of dogs – 6,24 pg, of cocks – 2,59 pg, of turkey-cocks – 3,7 pg, of men – 7,26 pg. The high variability of the size, dry mass of sperm, usually indicate an increased number of abnormal cell shape and low sperm quality. **Conclusion.** Interference microscopy techniques allow us to study ultramorphology sperm determine the amount of dry matter, DNA, and other indicators and reliable assessment of the quality of each ejaculate and the fertility of animals.

Keywords: spermatozoa, interference microscopy, fertility.

ВЕРЖУК В.Г.¹, ПАВЛОВ А.В.¹, ТИХОНОВА О.А.¹, БОРЗЫХ Н.В.², ДОРОХОВ Д.С.²

¹*Всероссийский научно-исследовательский институт растениеводства им. Н.И. Вавилова Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 42-44, e-mail: vverzhuk@mail.ru*

²*ГНУ ВНИИГиСПР им. И.В. Мичурина Россельхозакадемии, e-mail: cglm@rambler.ru*

ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ГЕНОПЛАЗМЫ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР ПОСЛЕ КРИОСОХРАНЕНИЯ В ПАРАХ ЖИДКОГО АЗОТА ПРИ –183–185°C

Наряду с классическими способами хранения генофонда плодовых культур путем посадки коллекционных образцов в саду, существует перспективный и сравнительно дешевый способ сохранения геноплазмы растений, это ее криоконсервация в жидком азоте или его парах при –183–185°C [1, 2, 3]. При таком способе консервации используют различные части растений – побеги (черенки), отделенные от побегов почки, пыльцу, меристемы и семена диких видов [4]. На примере различных образцов таких плодовых культур как черная смородина и яблоня нами проводились изучения их устойчивости и способности черенков выдерживать сверхнизкие температуры при длительном хранении в парах жидкого азота. Были также про-

ведены исследования по хранению почек черной смородины и черемухи, отделенных от древесины и обработанных перед замораживанием криопротекторами различной концентрации. Применяя криопротекторы с воздействием на растительную клетку и ее содержимое нами преследовалась цель получения живых растений из консервируемых почек в условиях *in vitro*. По работам других авторов известно, что криозащитные вещества не только уменьшают размеры кристаллов льда в растительных тканях и их количество, но и снижают токсические и другие вредные эффекты обезвоживания [5]. Кроме проверки жизнеспособности геноплазмы в виде черенков, почек и др. частей растений, проводилась оценка биохимического состава плодов яб-

лони, полученных на привитых побегах, ранее сохраняемых в азоте [6]. Закладывая растительный материал на длительное хранение, следует учитывать подбор режимов замораживания-

Материалы и методы

Исследования по криоконсервации отдельных черенков проводили на образцах культур яблони и черной смородины. Образцы черной смородины были взяты из генетической коллекции смородины Павловской опытной станции ВИР (г. Павловск), образцы яблони нарезаны в садовых насаждениях ГНУ ВНИИ-ГиСПР им. И.В. Мичурина (г. Мичуринск). Нарезку проводили в ноябре-декабре месяце, когда растения находились в состоянии глубокого покоя. Перед закладкой черенки делили на сегменты длиной 6–8 см (с 2–3 почками на черенке) и подсушивали перед закладкой три-четыре недели при $-4-5^{\circ}\text{C}$ в холодильном шкафу «INCUBATOR -818» до влажности 28–35 %. После подсушивания черенки из расчета 10 шт на повторность, на образец 6–10 повторностей замораживали в замораживателе фирмы «Sanyo Medikal Freezer» до $48-50^{\circ}\text{C}$ и переносили на хранение в пары азота при $-183-185^{\circ}\text{C}$ в большие криотанки – ХБ – $0,5\text{ м}^3$ объемом [7]. В работе с криопротекторами применяли прони-

Результаты и обсуждение

Погодные условия 2012 года оказались очень благоприятными для укоренения черенков черной смородины, которые после хранения в парах азота были разморожены и высажены в поле на территории Пушкинских лабораторий ВИР (г. Пушкин). Достаточное количество зимне-весенней влаги в почве и дожди в апреле месяце способствовали укоренению черенков, не допуская пересыхания почвы, создавая необходимый в этот период равномерный полив. В опыте участвовало 8 гибридов европейского и сибирского подвидов *Ribes nigrum* L. с сортами Нарядная, Неосыпающаяся, Кокса и Голубка: Нарядная х №5, Неосыпающаяся х №4, Неосыпающаяся х №2, Кокса х №6, Нарядная х №2, Неосыпающаяся х №6, №4 х Голубка. Лето этого года также было достаточно влажным и в результате благоприятных условий рост и развитие растений проходил равномерно, высота молодых побегов у отдельных сильнорослых гибридов достигала от 30 до 50 см. В результате проведенных исследований было выявлено, что все опытные гибриды после хранения в азоте показали хорошую жизнеспособность, после посадки в почву прижились и дали хорошее по-

размораживания и соответствующих условий для вывода сохраняемой геноплазмы из состояния глубокого покоя [2].

кающие в отделенные от древесины почки протекторы такие как 25 %, 40 %-ый глицерин и 25 %, 40 %-ную сахарозу. Почки помещали в криопробирки, заливали и инкубировали в криопротекторах 1 ч при 20°C , затем замораживали в замораживателе фирмы «Sanyo Medikal Freezer» до $48-50^{\circ}\text{C}$ и переносили на хранение в пары азота при $-183-185^{\circ}\text{C}$. После 1,5 месяца хранения почки размораживали, отмывали от криопротекторов и проращиванием на питательной среде (MS) определяли их жизнеспособность в процентном отношении от количества проращиваемых и проросших почек взятой культуры. Химический состав плодов, выращенных на черенках, сохраняемых в парах азота и привитых на взрослые ветви в саду, определяли в период потребительской зрелости принятыми методами, в соответствии с «Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» [8]; «Методы биохимического исследования растений» [10].

бегообразование. Некоторые из них образовали по два побега. Лучшими из взятого набора образцов по показателю жизнеспособности оказались такие гибриды как Неосыпающаяся х №4, Нарядная х №5, Неосыпающаяся х №2, Кокса х №6, ПУ 31–5 (Нарядная х №2), №4 х Голубка – у них процент приживаемости весной и в летний период находился на уровне 80–90 %, только у гибридов ПУ 18–5 (Нарядная х №2) и Неосыпающаяся х №6 жизнеспособность черенков была меньшей и составляла 70–60 % соответственно. Результаты обработанных почек различной концентрации криопротекторами после хранения их в азоте и затем проращенных на питательной среде показали различную жизнеспособность. Так при обработке сорта черемухи Августина 25 % раствором сахарозы после проращивания на питательной среде жизнеспособность их составляла 72 %, а при увеличении концентрации криопротектора до 40% жизнеспособность почек увеличилась и составляла 80 %. В данном случае увеличение концентрации сахарозы положительно сказывается на жизнеспособности почек после криосохранения. После пересадки в стаканчики со средой они хо-

рошо развивались, формируя зеленые побеги. При обработке почек глицерином было выявлено меньшее число живых почек на 25 %-й концентрации (54,83 %) по сравнению с 40 % концентрацией (69,6 %). Такая стабильность реакции обработанных почек на выбранные нами криопротекторы и жизнеспособность их после криосохранения в парах азота позволяет сделать вывод о возможности применения их для длительного хранения коллекционного материала. При работе с небольшим набором сортов, тенденция по показателю жизнеспособности сохранялась и у других сортов – жизнеспособность почек увеличивалась с увеличением концентрации криопротектора. В работе по определению биохимического состава плодов и ранее опубликованной, была сделана попытка сравнить состав плодов в контрольном варианте с опытным, т.е. провести биохимический анализ плодов, полученных на привитых черенках после хранения их в парах жидкого азота при сверхнизких температурах $-183-185^{\circ}\text{C}$. Такое сравнение необходимо проводить для более

точного знания – существуют ли изменения в растительной геноплазме при хранении и на каком уровне, а что касается плодов, то большинство компонентов качества плодов имеет сложную генетическую основу и оценивается по фенотипическим, органолептическим и биохимическим признакам [6]. В ходе проведенных исследований, следует отметить, что плоды сортов яблони, завязавшиеся на прививках черенков после криосохранения в парах азота (далее «опыт»), различаются с контролем по морфологическим признакам незначительно. Результаты данных по определению биохимического состава плодов приведены в таблице 1. При оценке приведенных в таблице показателей видно, что между контролем и опытом в пределах сорта не существует большой разницы, она наблюдается если сравнивать различные сорта. Следует заключить, что в результате криосохранения черенков яблони, с последующей прививкой их в крону деревьев, не выявлено существенных изменений фенотипических признаков и биохимического состава плодов.

Таблица 1. Биохимический состав плодов

Сорт		Витамин С, мг/100г	Титруемая кислотность, %	РСВ, %	Сумма сахаров, %
Болотовское	контроль	9,68	0,32	15,00	12,76
	опыт	8,80	0,29	15,16	12,08
Веньяминовское	контроль	8,80	0,40	13,40	11,56
	опыт	8,80	0,43	13,42	11,34
Скала	контроль	26,40	0,67	14,80	11,70
	опыт	25,52	0,70	14,75	11,10
Успенское	контроль	27,28	0,43	14,50	10,22
	опыт	26,40	0,46	14,45	10,06
11-6-2	контроль	11,44	0,24	14,06	9,92
	опыт	10,56	0,27	14,04	9,22
Антоновка	контроль	7,92	1,45	14,50	11,56
	опыт	7,04	1,47	14,70	11,04

Выводы

По полученным результатам следует отметить, что все опытные гибриды черной смородины после хранения в азоте показали хорошую жизнеспособность, после посадки в почву прижились и дали хорошее побегообразование. Результаты обработанных почек различной концентрации криопротекторами после хранения их в азоте и затем пророщенных на питательной

среде показали различную жизнеспособность, увеличение концентрации сахарозы положительно сказывается на жизнеспособности почек после криосохранения. В результате криосохранения черенков яблони, с последующей прививкой их в крону деревьев, не выявлено существенных изменений фенотипических признаков и биохимического состава плодов.

Литература

1. 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 Нукоград., 2010. – С. 80–83.
2. 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.
3. 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 азота. – К., 2012. – С. 417–421.
4. Forslin P.I, Towill L.E., Waddel J.W. at 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. Дорохов Д.С., Вержук В.Г., Борзых Н.В. и др. Влияние криоконсервации черенков яблони на биохимический состав плодов // Плодоводство и ягодоводство России. Сборник научных работ. – М., 2012. – Т. XXXII, Ч. 2. – С. 118–122.
7. Вержук В.Г., Тихонова О.А., Тихонова Н.Г. Фертильность пыльцы черной смородины (*Ribes nigrum L.*) при сверхнизких режимах хранения. – М., 2007. – С. 66–68.
8. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под общ. ред. Е.Н. Седова, Т.П. Огольцовой. – Орел: Изд-во ВНИИСПК, 1999. – 608 с.
9. Седов Е.Н. Селекция яблони на улучшение химического состава плодов. – Орел, 1982. – 120 с.
10. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Колос, 1987. – 430 с.

VERZHUK V.G.¹, PAVLOV A.V.¹, TIKHONOVA O.A.¹, BORZHYH N.V.², DOROKHOV D.S.²

¹ *Stite Scientific Centre N.I. Vavilov All-Russian Research Institute of Plant Industry of RAAS Russia, 190000, St. Petersburg, Bolshaya Morskaya str., 42-44, e-mail: vverzhuk@mail.ru*

² *GNU VNIIGiSPR them. I.V. Michurina RAAS, e-mail: cglm@rambler.ru*

EVALUATION OF THE VIABILITY GENOPLAZMY OF FRUIT CROPS AFTER CRYOPRESERVED AT VAPOR OF LIQUID NITROGEN –183–185°C

Aims: to study the ability storage of vegetative shoots and buds of fruit crops to withstand ultra-low temperature of the vapor-liquid nitrogen. **Methods:** cuttings dried up to the humidity of 28–35 %, frozen gradually to –49°C and placed in storage in pairs liquid nitrogen at –183–185°C. As a cryoprotectors used different concentration of glycerin and sucrose. The chemical composition of fruits determined by the protocols: [10]. **Results:** Cuttings currant, planted in the field, showed good viability: 60–90%. The viability of processed cryoprotectors buds was 69,6–72 %. The biochemical composition of fruits: the differences between the control and experience were insignificant. **Conclusions:** Results of the research showed that the cuttings and buds fruit crops after storage in liquid nitrogen remain viable at the level of 60–90 %.

Key words: large fruit, cryopreservation, cuttings of vegetative shoots, buds, cryoprotectors.

ГАЛАЕВ А.В., ГАЛАЕВА М.В., СИВОЛАП Ю.М.

Селекционно-генетический институт – национальный центр семеноводства и сортоизучения Украина, 65036, м. Одесса, вул. Овидиопольская дорога, 3, e-mail: galaev7@rambler.ru

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО ЛОКУСА *Xbarc55-2B*, СЦЕПЛЕННОГО С ГЕНОМ ГИБРИДНОГО НЕКРОЗА *Ne2*, В СОРТАХ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*TRITICUM AESTIVUM L.*)

Гибридный некроз пшеницы (*Triticum aestivum L.*) является серьезным препятствием для объединения желательных признаков в одном генотипе или для передачи генов от диких видов коммерческим сортам. В определенных случаях во время скрещивания разных сортов

пшеницы гибридные растения могут не формировать семян. Это происходит при наличии у родительских форм комплементарных генов гибридного некроза. Они представлены аллелями сильного, среднего и слабого действия. Растения генотипа *Ne1-Ne2* или не дают семян, или,

если аллели слабые, имеют низкую семенную продуктивность, поскольку листья у них отмирают [1]. Поэтому при подборе родительских пар для скрещиваний селекционеры должны избегать объединения генов гибридного некроза. Сведения о сортах-носителях летальных генов Ne можно найти в публикациях [2, 3]. Однако данные о состоянии генов гибридного некроза многих сортов украинской селекции отсутст-

Материалы и методы

Материалом для исследований служили 257 сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), среди которых 213 сортов разных селекционных центров Украины, 37 сортов российской селекции и 7 иностранных сортов.

ДНК выделяли из сухих зерен и 3–5 дневных проростков [5]. ПЦР с направленными праймерами к микросателлитному локусу *Xbarc55-2B* проводили на термоциклере «Терцик» («ДНК-технология», Россия). Реакционная смесь содержала буфер (67 мМ трис-HCl pH 8,8; 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄; 1,5 мМ MgCl₂; 0,01 % Tween-20); 0,2 мМ каждого dNTP; 0,25 мкМ праймера; 20 нг ДНК; 1 ед. Taq-полимеразы. Условия реакции – 35 циклов: денатурация при 94 °С – 30 с (начальная – 2 мин), отжиг при 55 °С – 30 с, элонгация при 72 °С – 1 мин, заключи-

Результаты и обсуждение

При исследовании 257 сортов *Triticum aestivum* выявлено 6 аллелей локуса *Xbarc55-2B*, размером 146 п.н., 142 п.н., 136 п.н., 132 п.н., 126 п.н., 122 п.н. (рис. 1). Большинство сортов (94 %) являются линейными с присутствием одного из аллелей вышеуказанного локуса (табл. 1). Ряд сортов (7 %) оказались неоднородными и состояли из двух генотипов по аллелям локуса *Xbarc55-2B*. Популятивные сорта можно распределить на 4 группы, в зависимости генотипа. Таким образом, все исследуемые сорта можно распределить на 9 групп, 5 из которых характеризуются наличием одного аллеля локуса *Xbarc55-2B*, а 4 являются гетерогенными.

Наиболее распространен у сортов пшеницы мягкой украинской и российской селекции аллель локуса *Xbarc55-2B* размером 136 п.н. Частота встречаемости указанного аллеля в общем наборе сортов составила 77,2 % (табл. 2). Этот аллель характерен для сортов Chinese Spring, Безостая 1, Альбатрос одесский, Украин-

ют.

Микросателлитный локус *Xbarc55-2B* близко сцеплен с геном гибридного некроза *Ne2* [4] и может использоваться как диагностический маркер для вышеуказанного гена.

Цель настоящего исследования – идентификация сортов мягкой пшеницы различных регионов по локусу *Xbarc55-2B*, сцепленному с геном гибридного некроза *Ne2*.

тальная элонгация – 4 мин. Продукты амплификации фракционировали в 12 % полиакриламидном геле в 1хTBE. Электрофорез проводили при постоянном напряжении 500 В в аппарате для вертикального гель-электрофореза «Hoefer Scientific Instruments» (США). Гели окрашивали нитратом серебра согласно Silver sequence TMDNA Sequencing System Technical Manual («Promega», США). Видеоизображение и размеры амплифицированных фрагментов получали с помощью видеосистемы «ImageMaster VDS» («AmershamPharmaciaBiotech», США). Калибровку молекулярной массы проводили при использовании стандарта pUC 19/MspI.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по общепринятым методам [6].

ка одесская, Селянка и др., которые несут рецессивный аллель гена *ne2* [3, 7]. Т.е. аллельный вариант локуса *Xbarc55-2B* 136 п.н. связан с рецессивным аллелем гена *ne2* и может использоваться как диагностический. Сорта с таким генотипом можно использовать в любых вариантах скрещиваний, гибридный некроз при этом выявляться не будет.

Наименее распространены у сортов мягкой пшеницы аллели 146 п.н., 142 п.н. и 122 п.н. Аллель 146 п.н. характерен для сортов Agatha, Agent, Transfer (США, Канада) и не выявлялся у сортов пшеницы мягкой украинской и российской селекции. Аллель 142 п.н. встречался у 3 сортов Дар Луганщини, Мильтурум 513, Смуглянка. Аллель микросателлитного локуса размером 122 п.н. выявлен у сорта Апогей Луганский, при этом, вышеуказанный сорт гетерогенен и состоит из двух генотипов (генотип с аллелем 122 п.н. и генотип с аллелем 136 п.н.), которые встречались с одинаковой частотой.

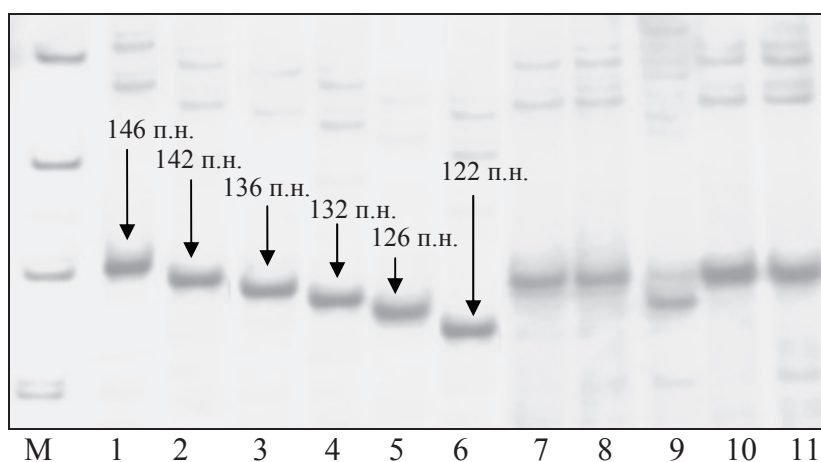


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК сортов озимой пшеницы по локусу *Xbarc55-2B*: М – маркер молекулярного веса pUC19/MspI; 146 п.н.: 1 – Agatha; 142 п.н.: 2 – Смуглянка; 136 п.н.: 3 – Chinese Spring; 132 п.н.: 4 – Мироновская 808; 126 п.н.: 5 – Багратионовская; 122 п.н.: 6 – Апогей Луганский; 7 – Апогей Луганский, 8 – Альбатрос одесский; 9 – Истина одесская; 10 – Селянка; 11 – Безостая 1

Частота аллелей локуса *Xbarc55-2B* размером 132 п.н. и 126 п.н. в общем наборе сортов составила 12,5 % и 7,8 %, соответственно. Аллель 132 п.н. характерный для Мироновской 808 и Краснодарской 99, которые несут гены *Ne2* сильного действия.

Аллель 126 п.н. также выявлялся у сортов с генами *Ne2* сильного действия Багратионовская и Мироновская 27. Таким образом, аллельные варианты локуса *Xbarc55-2B* размером 132 п.н. и 126 п.н. связаны с доминантными аллелями гена *Ne2*. На сорта с таким генотипом селекционерам следует обращать особое внимание, так как при скрещивании их с другими сортами несущими доминантный аллель гена *Ne1* вероятно проявление гибридного некроза.

Наибольшее распространение аллели 132 п.н. и 126 п.н. получили у сортов Севера Украины (23,8 % и 26,3 %, соответственно). У исследованных нами сортов Востока Украины и Северного Кавказа часто встречался аллель 132 п.н. и не был выявлен аллель 126 п.н. Частота аллеля 132 п.н. на Юге Украины составила 7,2 %, а аллеля 126 п.н. – 3,3 %.

Первоисточником аллеля 132 п.н. в сортах украинской селекции был сорт Банатка. Сорт

Украинка, получен отбором от Банатки, также содержал аллель 132 п.н. Сорт Мироновская 808, для которого также характерен аллель 132 п.н., по нашему мнению, был получен от сорта Украинка, а не от сорта Артемовка (аллель 136 п.н.), как указано в его родословной. Дальнейшее распространение аллеля 132 п.н. среди сортов пшеницы мягкой на Севере Украины связано с Мироновской 808. На Юге Украины в селекционный процесс в основном привлекались сорта с аллелем локуса *Xbarc55-2B* размером 136 п.н. (Одесская 16, Безостая 1, Одесская 51, Альбатрос одесский, Виктория одесская), что и послужило причиной наибольшего распространения указанного аллеля среди сортов этого региона.

Аллель 126 п.н. впервые выявлен у сорта-популяции Крымка местная и у сорта Кооператорка, который получен отбором из Крымки. В сортах, которые выращивались на территории Украины с 1947 по 1993 годы указанный аллель практически не выявлялся. Широкое распространение аллель локуса *Xbarc55-2B* 126 п.н., связанный с доминантным аллелем гена *Ne2*, получил в последние 20 лет, особенно среди сортов Севера Украины.

Выводы

Идентифицированы по аллелям локуса *Xbarc55-2B*, сцепленного с геном гибридного некроза *Ne2*, генотипы 257 сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) различного географического происхождения. Выявлено шесть аллелей указанного локуса, размером 146 п.н., 142 п.н., 136 п.н., 132 п.н., 126 п.н. и 122 п.н. В общем и в наборах сортов всех регионов с

большой частотой встречался аллель 136 п.н. (47,5–89,5 %), который вероятно связан с рецессивным аллелем гена *ne2*. Аллель 132 п.н., характерный для сорта-носителя доминантного аллеля гена *Ne2* Мироновская 808, встречался у 12,5 % исследованных сортов и наибольшее распространение получил среди сортов Северного Кавказа, Севера и Востока Украины.

Таблица 1. Генотипы сортов мягкой пшеницы различного географического происхождения по аллелям локуса *Xbarc55-2B*

Аллель	п	$p \pm S_p, \%$	Сорт
146 п.н.	3	1,2±0,7	Agatha, Agent, Transfer
142 п.н.	3		Дар Луганцини, Мильтурум 513, Смуглянка
136 п.н.	191		Chinese Spring, Аврора, Альбатрос одесский, Альбидум 114, Альбидум 12, Антонивка, Артемовка, Астет луганский, Бэзмэжна, Безостая 1, Белоцерковская 198, Билява, Благодарка одесская, Борвий, Бриз, Бригангина, Бунчук, Буревестник одесский, Василина, Вагажок, Вдала, Веселка, Веселоподольская 499, Веснянка, Ветеран, Выхованка одесская, Виген, Виктория одесская, Володарка, Гирка местная (0274), Годувальница одесская, Голубка одеская, Господиня, Гостианум 237, Гурт, Дальницька, Дарунок, Довира, Донецька 48, Донсимб, Донская, Дриада 1, Дюк, Едність, Жайвир, Журавка, Задумка, Заможність, Застава одесская, Звытяга, Земка, Землячка одесская, Зенитка, Зыск, Зирка, Злагода, Змина, Знахідка одесская, Золотава, Золотоколоса, Зорепад, Ивановская остистая, Кавказ, Казанская 237, Казанская 285, Киевская 8, Киевская остистая., Киянка, Кирия, Княгиня Ольга, Коломак 3, Коломак 5, Красень, Красуня одесская, Кубанка, Кубанка 2, Куяльник, Лад, Лада од., Лан, Лановый, Лебидка, Лелека, Леля, Лиона, Лира, Лузановка одесская, Лыганивка, Люгесценс 17, Люгесценс 7, Мелодия, Мироновская юбилейная, Мироновская 264, Мильтурум 553, Мильтурум перерод, Миссия одесская, , Наснага, Находка 4, Небокрай, Нива, Никония, Обрий, Одесская 3, Одесская 12, Одесская 26, Одесская 51, Одесская 66, Одесская 117, Одесская 120, Одесская 130, Одесская 132 Одесская 161, Одесская 265, Одесская 266, Одесская 267, Одесская безостая, Одесская красноколосая, Одесская остистая полунтенсивная, Одом, Оксана, Олеся, Ольвия, Омская 2, Омская 3, Омская 4, Омская 5, Омская озимая, Отаман, Панна, Пересвет, Перлына лисостепу, , Победа 50, Повага, Подяка, Полукарлик 1, Польовик, Порада, Пошана, Прибой, Прима одесская, Прогресс, Прокофьевка, Прометей, Пылыпивка, Пысанка, Розмай, Росинка, Свитанок 1, Селянка, Сибирская нива, Символ одесский, Сирена одесская, Скарбница, Скифянка, Скороспелка 1, Скороспелка 3б, Служница одесская, Снигурка, Софийка, Спарганка, Співанка, Струмок, Супутница, Турунчук, Ужинок, Українка полтавская, Українка одесская, Фангазия одесская, Федоровка, Фрегат одесский, Харус, Хвыля, Херсонская 99, Херсонская остистая, Херсонская безостая, Хыст, Хуртовина, Цыганка, Чайка, Червона, Черноброва, Элегия, Эпоха одесская., Эра, Эритроспермум 127, Эритроспермум 15 (Стахановка), Юбилейная 75, Южная зоря, Юннат одесский, Якорь одесский, Ятрань 60
132 п.н.	26	10,1±1,9	Батько, Белоцерковская полукарликовая, Белоснежка, Богдана, Добрович, Донской сюрприз, Запорука, Зустріч, Кнопа, Краснодарская 99, Ластивка, Лесостепка 75, Любава одесская, Мироновская остистая, Мироновская 808, Одесская 162, Подольнка, Ренан, Северная зоря, Українка, Українка 0246, Ульяновка, Харьковская 105, Харьковская 96, Шестопаловка, Юна
126 п.н.	17	6,6±1,5	Vabaх, Багратионовская, Вымпел одесский, Истина одесская, Кооператорка, Крыжынка, Мирич, Мироновская 65, Мироновская 27, Мироновская 33, Мирхард, Саратовская 25, Степова, Фаворитка, Фарандоль, Экспромт, Ясочка
136 п.н.+ 126 п.н.	4	1,6±0,8	Зоря, Колумбия, Крымка местная, Нагорода одесская

7	136 п.н.+122 п.н.	1	0,4±0,4	Апогей Луганський	
8	136 п.н.+132 п.н.	10	3,9±1,2	Банатка, Диканька, Донецкая полукарликовая, Заграва одесская, Иллйичевка, Косовыця, Одесская 133, Одесская полукарликовая, Станичная, Тира	
9	132 п.н.+126 п.н.	2	0,8±0,6	Лыбидь, Мирлебен	
		257			

Примечание: * – в сорте присутствуют два генотипа с разными аллелями локуса *XbaI*c55-2*B*

Таблица 2. Частоты аллелей гена *Me2* в общем наборе сортов и в наборах сортов разных регионов Украины и России

Алель, п.н.	Общий набор		Юг Украины		Север Украины		Восток Украины		Западная Сибирь, Поволжье		Северный Кавказ	
	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %
146 п.н.	3	1,2 ±0,7	0	0 ±0,6	0	0,0 ±2,3	146 п.н.	3	1,2 ±0,7	0	0 ±0,6	0
142 п.н.	3	1,2 ±0,7	0	0 ±0,6	1	2,5 ±2,5	142 п.н.	3	1,2 ±0,7	0	0 ±0,6	1
136 п.н.	198,5	77,2 ±2,6	136	89,5 ±2,5	19	47,5 ±7,9	136 п.н.	198,5	77,2 ±2,6	136	89,5 ±2,5	19
132 п.н.	32	12,5 ±2,1	11	7,2 ±2,1	9,5	23,8 ±6,7	132 п.н.	32	12,5 ±2,1	11	7,2 ±2,1	9,5
126 п.н.	20	7,8 ±1,7	5	3,3 ±1,4	10,5	26,3 ±7,0	126 п.н.	20	7,8 ±1,7	5	3,3 ±1,4	10,5
122 п.н.	0,5	0,2 ±0,3	0	0 ±0,6	0	0,0 ±2,3	122 п.н.	0,5	0,2 ±0,3	0	0 ±0,6	0
Итого	257		152		40		Итого	257		152		40

Литература

1. Спеціальна селекція польових культур: Навчальний посібник / В.Д. Бугайов, С.П. Васильківський, В.А. Власенко та ін.; за ред. М.Я. Полоцького. – Біла Церква, 2010. – 368 с.
2. Пухальский В.А., Мартынов С.П., Добротворская Т.В. Гены гибридного некроза пшеницы (теория вопроса и каталог носителей летальных генов). – Москва: МСХА, 2002. – 316 с.
3. Пухальский В.А., Билинская Е.Н., Мартынов С.П., Добротворская Т.В., Оболенкова Г.А. Новые данные по распространению генов гибридного некроза в сортах озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Генетика. – 2008. – Т.44, №2. – С. 209–218.
4. Chu C.-G., Faris J.D., Friesen T.L., Xu S.S. Molecular mapping of hybrid necrosis genes *Ne1* and *Ne2* in hexaploid wheat using microsatellite markers // *Theor Appl Genet* – 2006. – V. 112. – P. 1374–1381.
5. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: Науч.-метод. Руководство. – К.: Аграр. наука, 1998. – 156 с.
6. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – М.: Колос, 1973. – 327 с.
7. Catalogue of gene symbols for wheat: 2011 supplement [Электронный ресурс] / McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C.. – Режим доступа: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2011.pdf>

GALAEV A.V., GALAEVA M.V., SIVOLAP Yu.M.

*Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigations
Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopolskaya dor. str., 3, e-mail: galaev7@rambler.ru*

DISTRIBUTION OF ALLELES OF *Xbarc55-2B* MICROSATELLITE LOCUS CLOSELY LINKED TO HYBRID NECROSIS GENE *Ne2* IN BREAD WHEAT VARIETIES (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Aims. Identification of bread wheat varieties from different regions by *Xbarc55-2B* locus closely linked to gene *Ne2*. **Methods.** Polymerase chain reaction (PCR), gel-electrophoresis. **Results.** 257 genotypes of bread wheat varieties from Ukraine and Russia selection centers were identified by the locus *Xbarc55-2B*. There were detected six alleles of this locus, namely 146, 142, 136, 132, 126 and 122 bp. Allele 136 bp was met more frequently (47,5–89,5 %) in the general set of varieties and in the sets of varieties from individual regions. Allele 132 bp, which is typical for Mironovskaya 808 (variety-carrier of dominant allele of *Ne2* gene), was detected in 12,5 % of the studied varieties. **Conclusion.** Allele 136 bp is probably associated with the recessive allele of *ne2* gene.

Key words: *Triticum aestivum* L., hybrid necrosis genes, microsatellite loci

ГУЗЄВ І.В.

Інститут розведення і генетики тварин НААН

*Україна, 08321, Київська обл., Бориспільський р-н, с. Чубинське, вул. Погребняка, 1,
e-mail: guzev@cdmaua.com*

ЦІЛІ, ЦІННОСТІ Й ОДИНИЦЯ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ ТА ГЕНОФОНДОВИЙ ОБ'ЄКТ У ТВАРИННИЦТВІ

Чітке визначення цілей є вирішальним етапом для всієї діяльності щодо збереження. Ключове поняття, що стає перед нами в проблематиці збереження генетичних ресурсів тварин [ГРТ] – це наявність їх генетичного різноманіття (різної структурованості), як результату спадкової мінливості тварин. Це та основоположна цінність, на збереження якої, в кінцевому підсу-

мку, і повинні бути направлені усі наші основні різновекторні зусилля. При цьому слід чітко визначитись із основною охоронною одиницею (або генофондовим об'єктом). Тобто, що ми, в першу чергу, збираємось зберігати та чому (яка якісна своєрідність, через певні види специфічних цінностей, їй повинна бути притаманна?).

Матеріали і методи

На основі аналізу «Стану Всесвітніх генетичних ресурсів тварин» (SoW – AnGR, 2007) [1] в частині віддавання переваг різними країнами

різним видам специфічних цінностей, як похідних якісної своєрідності будь-якої з відомих популяційних структур, а також сучасних базових

генетичних знань відносно жорсткого ув'язування паратипового із генотиповим контролем фенотипу, як комплексу реалізованих в онтогенезі ознак на індивідуальному і популяційному рівнях, нами представлена (рис. 1) загальна схема формування цінностей і збереження їх генетичної основи – генофонду (алелофонду) сільськогосподарських тварин України (світу). З неї випливає і основна мета збереження генетичного різноманіття тваринництва України (світу): Максимізація корисності (зважена комбіна-

Результати та обговорення

Усвідомлене розуміння важливості існуючого різноманіття ГРТ (у сенсі її виїмкової цінності) є необхідною умовою накопичення знань і управління генетичними ресурсами. Тому проблеми збереження в широкій сутності інтерпретуються як забезпечення довготривалого підтримання біорізноманіття. Звідки і стало використання розглядається в якості вибору, який робиться задля досягнення збереження біологічного різноманіття.

Проте, збереження лише тільки максимально можливою для даних умов різноманітності як такої (самої по собі), рідко буває єдиною метою. Важливо ще зрозуміти необхідність паралельного прийняття до уваги і інших факторів, таких як збереження певних особливих ознак (наприклад, високий потенціал окремих функціональних і адаптаційних якостей, неспецифічної резистентності, стійкості до захворювань тощо), історична (як славна пам'ять), культурна (як культурне надбання і живодайний вплив сукупності матеріальної і духовної спадщини на вдячних потомків), екологічна (для нормалізації оточуючого середовища, в тому числі ландшафтна), медична (для забезпечення здоров'я людини), соціальна (для вирішення соціальних проблем своїх господарів), наукова (для отримання нових, важливих для суспільства знань; поряд, а інколи і на противагу економічної) цінності кожної конкретної охоронної одиниці. Отже, головною кінцевою метою є максимізація корисності всієї сукупності порід [1] (як відібраних одиниць збереження), де під корисністю розуміється зважена комбінація показників різноманіття і інших ознак або цінностей (рис. 1).

Якщо аналізувати раніше набраний досвід у первісному цільовому виборі різних країн, то цілі збереження дійсно могли бути різними – економічними, соціальними, культурними, науковими тощо. Само збереження могло мати більш вузьку мету і бути направлено лише на певні породи, що знаходяться на межі зникнен-

ня показників різноманітності та корисних ознак) і довгострокова охорона комплексу генетично зумовлених цінностей всієї сукупності окремих популяцій сільськогосподарських тварин задля одержання найбільших вигод у задоволенні поточних і майбутніх потреб нації (люду).

А в якості елементарної одиниці збереження виступає запропоноване нами збірне (в семантичному сенсі) поняття «генофондового об'єкту» [2–5].

У зв'язку з тим, що в значно більш широкому естві (меті) – на забезпечення збереження різноманіття ГРТ в цілому (на що сьогодні орієнтується весь цивілізований світ і, в тому числі, зокрема, у нашому лиці, Україна).

У зведеному аналізі ФАО Доповідей певних країн [1] показано на декількох прикладах їх законодавства щодо збереження, що вони мають виразні культурні цілі. Республіка Корея зберігає певні породи – «історичні пам'ятки» Законом про охорону культурних цінностей. Деякі провінції Канади законодавчо встановили поняття «порода-спадщина» і до них віднесли канадську корову, канадського коня, породу курей шантерклер в Квебеке, ньюфаундлендський поні в провінції Ньюфаундленд і на Лабрадорі. В Перу перуанський кінь, альпака і лама вважаються національними символами/

Японія вказала в якості критерію наукову цінність – її Закон про охорону культурних цінностей (1950) визначив аборигенні види, в тому числі сільськогосподарських тварин, які мають високу наукову цінність як «природне багатство». В інших випадках мотивом для заснування законодавчих заходів (а отже і першочергової мети) послугувала турбота про біорізноманіття взагалі, як, наприклад у Постанові про збереження генетичної різноманітності сільськогосподарських тварин Словенії від 2004 року [6].

Саме останній приклад, за великим рахунком, є найбільш надихаючим для України. Хоча при цьому ми абсолютно не відмітаємо, а тільки завжди зайвий раз підкреслюємо історичні, культурні і наукові цілі збереження, в першу чергу, усіх наших аборигенних порід сільськогосподарських тварин.

Коли основні цілі ясні, виникає питання про предмет – одиницю збереження: «А що нам, власно, необхідно зберігати перш за все, щоб надійно забезпечити в достатньо довгостроковій перспективі цілісність того самого генетичного різноманіття племінних ресурсів вітчизняного

Максимізація корисності та довгострокова охорона комплексу генетично зумовлених цінностей всієї сукупності окремих популяцій сільськогосподарських тварин задля одержання найбільших вигод у задоволенні поточних і майбутніх потреб нації (людства)

Мета збереження генетичного різноманіття тваринництва України (світу)

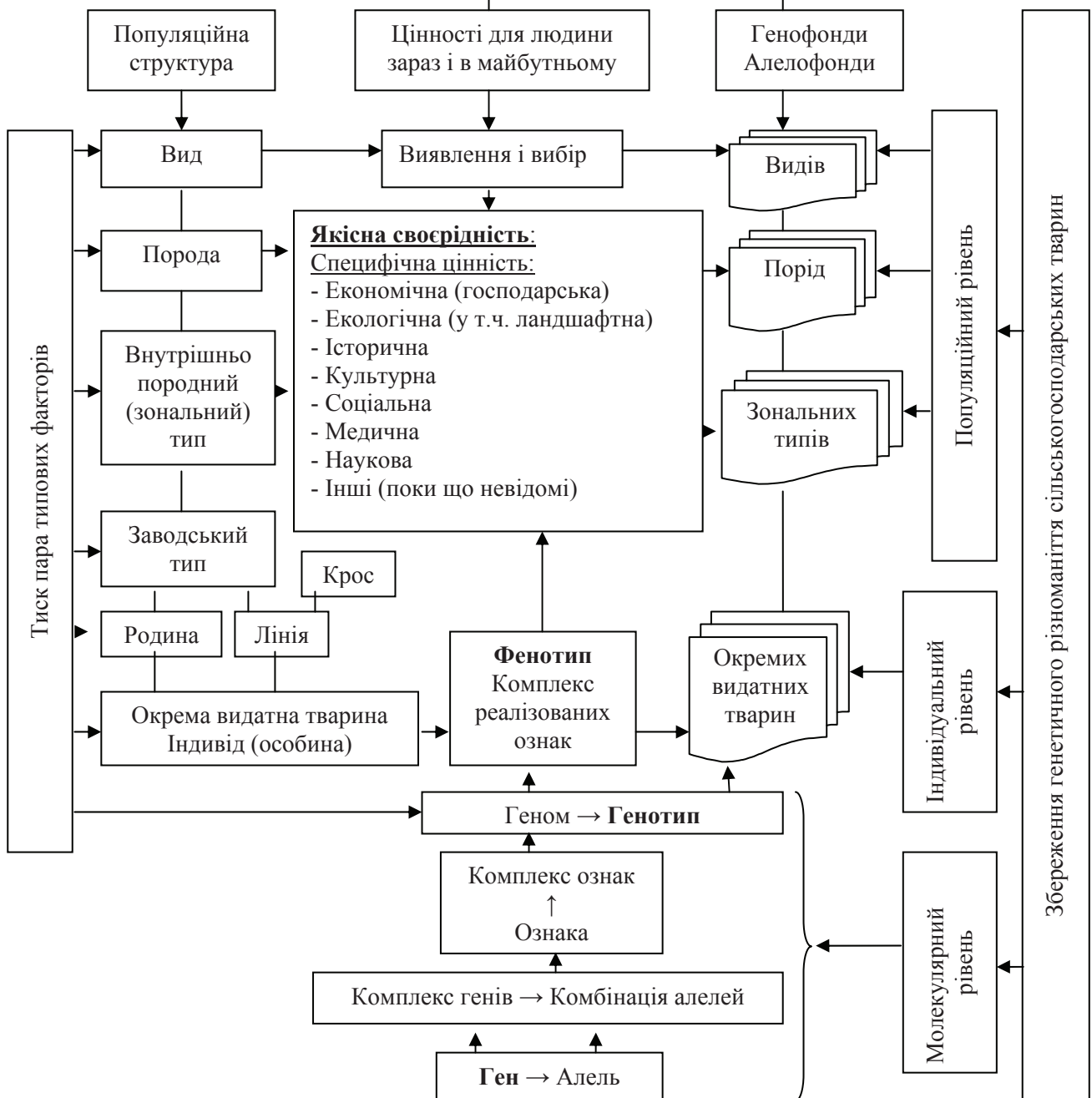


Рис. 1. Формування цінностей і збереження генофонду сільськогосподарських тварин України (світу)

тваринництва, яке являє собою (для нас і наших потомків) одну з основних цінностей у задоволенні поточних і майбутніх потреб?». Відповідь на нього можна отримати, проаналізувавши рис. 1, на якому автор представив власну загальну схему формування цінностей і збереження їх генетичної основи – генофонду сільськогосподарських тварин України (світу).

З наукової точки зору, базовою одиницею генетичної інформації, а, значить, мінливості, яка, в свою чергу, є метою збереження, представляється алель. Біологічна різноманітність видів сільськогосподарських тварин на молекулярно-генетичному рівні відображає алельне різноманіття (цебто відмінності послідовностей ДНК) в усіх відомих зараз у них, приблизно 25000, генах (себто функціональних районах ДНК), що впливають на усі, без виключення, ознаки тварин, включаючи і їхній продуктивний потенціал. Теоретично, виходить, основною одиницею збереження є алель. У такому разі завдання збереження може полягати в підтриманні внутрішньовидового різноманіття наявних зараз в нього алелей, а також забезпеченні нормального накопичення і потенційного збереження мутантних алелей, що знов виникають і є джерелом постійної еволюції тварин і їх удосконалення у розвитку (через природний і штучний добір). В теоретичному плані алельну різноманітність можливо виміряти, встановив кількість різних алелей і їх частоти, але у теперішній час це завдання нерозв'язне.

Орієнтація при консервації порід на збереження окремих алелей повинна гарантувати підтримання індивідуально організованих блоків мінливості. Проте, оскільки комбінації, необхідні задля відтворення специфічних показників, до сих пір залишаються недостатньо вивченими, такий підхід залишається достатньо ризикованим.

Тож при визначенні одиниці збереження потрібно усвідомлювати, що алелі не працюють в ізоляції, а постійно взаємодіють між собою в межах всього геному, чим і обумовлюють у більшості випадків певну окресленість ознак продуктивності і адаптації тварин. Тому бажаний рівень цих ознак забезпечується створенням відповідних алельних комбінацій в процесі розвитку ГРТ. А їхнє ефективне збереження, значить, повинно бути пов'язано із вже створеними спадковими популяційними структурами, які зараз дозволяють підтримувати існуючі генетичні комбінації, що обумовлюють відомий прояв функціональних, продуктивних і адаптивних ознак, і забезпечують легку доступність цих

комбінацій для підтримки поточних і наступних потреб тваринництва.

Як не важко догадатись, на цю роль краще всього підходить породна популяція, як найвищий підрозділ у спадковій структурній ієрархії практично будь-якого виду сільськогосподарських тварин. На відміну від більшості сортів культурних рослин, існуючі породи домашніх тварин менш одноманітні, генетично консолідовані, однак, тим не менш, представляють реалізацію різноманітних наборів функціональних і адаптивних процесів.

Як відмічає більшість експертів ФАО [1, 6], популяційна структура основних видів домашніх тварин у середині ХХ століття близько відповідала тій популяційній структурі, що була завбачена при максимізації еволюційного потенціалу. До того часу була велика кількість частково ізольованих субпопуляцій (порід), які підтримувались за різноманітних умов, але з періодичним обміном тваринами між популяціями і періодичною рекомбінацією порід задля створення нових генетичних комбінацій.

Таким чином, очікується, що прийняття породи як одиниці збереження забезпечує як достатньо вільний доступ до широкого набору алельних комбінацій (що представляють результат різноманіття, зокрема, процесів адаптації), так і підтримання на максимальному рівні еволюційного потенціалу у видів сільськогосподарських тварин.

Проте, в дійсності, в реальних умовах кожної конкретної країни, одиницею збереження деяких відносно нечисленних видових (інколи навіть родових) популяцій може бути сам цей біологічний вид (зрідка рід (родина)), який використовується зараз і може бути використаним у майбутньому для виробництва продуктів харчування і ведення сільського господарства, а на даний момент не має внутрішньовидової структурованості або взагалі в світі, або на території даної країни.

На противагу цьому випадку, країна може мати окремі породи, що представлені декількома зональними (внутрішньопородними) типами, які іноді досить істотно відрізняються між собою і представляють особливу цінність для деяких регіонів всередині країни. Крім того, завжди слід пам'ятати, що прогрес будь-якого селекційного досягнення напряму пов'язаний із виявленням і наступним максимальним використанням окремих найцінніших в племінному відношенні тварин – популяційних лідерів. Доцільність першочергового збереження їх спадкових ресурсів (генетичного матеріалу) також не

викликає сумніву у серйозних фахівців. У даному випадку і ці типи, поряд із певними видатними тваринами, на наш погляд, вельми логічно можуть розглядатись в якості окремих одиниць збереження (рис. 1).

Таким чином, ми підходимо до необхідності формулювання більш повного і одночасно достатньо чіткого і зрозумілого визначення одиниці збереження з точки зору реальної цінності і популяційного стану самого об'єкту, який, досить природно, пропонується назвати генофондовим. Відтворимо це наше визначення.

Генофондовий об'єкт – визначений селекціонерами задля тривалого зберігання мінімально необхідний об'єм племінних (мікропопуляція в умовах *in situ*) і генетичних (умови *ex situ in vitro*, зокрема кріобанк) ресурсів певного виду (роду або підвиду), породи, відріддя або зонального (внутрішньопородного) типу сільськогос-

Висновки

Головними кінцевими цілями збереження «культурного» біорізноманіття тваринництва України, як і світу в цілому, є максимізація корисності та довгострокова охорона комплексу генетично зумовлених цінностей всієї сукупності окремих популяцій сільськогосподарських тварин задля задоволення поточних і майбутніх потреб нації (людства).

Основні шляхи їх досягнення, що представлені в схематичному вигляді квінтесенції формування цінностей і збереження їх генетичної основи – генофонду сільськогосподарських тварин, – знаходяться на перетині площин, з одного боку, виявлення і вибору якісної своєрідності кожного охоронного об'єкту, а з іншої – організації збереження генетичного різноманіття (на різних рівнях популяційних структур) всієї їхньої сукупності.

Комбінація цінностей відібраної для довгострокового збереження сукупності популяцій, як і специфічна цінність кожної з них, можуть і повинні базуватись на наступних своїх категорі-

подарських тварин.

У більшості випадків у якості генофондових об'єктів виступають породи. Адже у новостворених, широко розповсюджених, а також імпортованих із різних країн популяцій тварин одних і тих же порід (іншими словами, вітчизняних і зарубіжних поліпшувачих порід) ми орієнтуємось на організацію збереження таких їх структурних одиниць, як відріддя або внутріпородний тип. Тому кількість об'єктів збереження стає більшою за таку власно порід. Наприклад, по великій рогатій худобі маємо 46 порід, але 58 генофондових об'єктів [7].

Крім того, після цього потрібно провести категоризацію порід (та усіх генофондових об'єктів) за загрозами для існування та підходами до зберігання за вітчизняною та міжнародно визнаною системами класифікації популяцій домашньої худоби.

ях (видах або основах цінностей): економічної (господарської), екологічної (в т.ч. ландшафтної), історичної, культурної, соціальної, медичної, наукової, а в майбутньому – і на інших, поки що невідомим нам.

Основною одиницею збереження біорізноманіття тваринництва є порода, а додатковою (допоміжною) – вид (рід або підвид), внутрішньопородний (зональний) тип (відріддя), окремі видатні в племінному відношенні тварини.

У відповідь на питання: «Що зберігаємо?» і в якості базової охоронної одиниці, запропоновано поняття і дано визначення генофондового об'єкта – визначеного селекціонерами задля тривалого зберігання мінімально необхідного об'єму племінних (мікропопуляція в умовах *in situ*) і генетичних (умови *ex situ in vitro*, зокрема кріобанк) ресурсів певного виду (роду або підвиду), породи, відріддя або зонального (внутрішньопородного) типу сільськогосподарських тварин.

Література

1. FAO. 2007b. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling. – Rome: FAO, 2007. – 511 p.
2. Гузев І.В. Концептуальні основи збереження генофонду сільськогосподарських тварин в Україні // Проблеми збереження генофонду тварин: матеріали творч. дискусії / Ін-т розведення і генетики твари, Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова / за ред. В.П. Бурката. – К.: Аграр. наука, 2007. – С. 4–25.
3. Методологічні аспекти збереження генофонду сільськогосподарських тварин / [М. В.Зубець, В. П. Буркат, Ю. Ф. Мельник та ін.]; за наук. ред. І.В. Гузева. – К.: Аграр. наука, 2007. – 120 с.
4. Програма збереження генофонду основних видів сільськогосподарських тварин в Україні на період до 2015 року / [Мельник Ю.Ф., Микитюк Д.М., Білоус О.В. та ін.]; заг. наук. ред. І.В. Гузева; консультація і специф. Ю.Ф. Мельника. – К.: Арістей, 2009. – 132 с.
5. Guziev I. The Ukrainian National Focal Point for Animal Genetic Resources // FAO. – 2011. – № 6: Developing

the institutional framework for the management of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. – № 6. – Rome, Italy: FAO of the UN, Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, 2011. – P. 53.

6. ФАО, 2010. ВИЖ РАСХН, 2010. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства; пер. с англ. С.Н. Харитоновна, Т.Т. Глазко, О.В. Кузнецовой [и др.]. – М.; Рим: ФАО, 2010. – 512 с.
7. Гузев І.В. Методологія збереження біорізноманіття генетичних ресурсів тваринництва України: дис. доктора с.-г. наук: 06.02.01. – Чубинське, 2012. – 630 с.

GYZIEV I.V.

Institute of animals breeding and genetics NAAS

Ukraine, 08321, Kyiv region, Boryspil district, v. Chubinsky, Pogrebnjaka str., 1,

e-mail: guzev@cdmaua.com

THE PURPOSES, VALUES AND UNIT OF PRESERVATION OF THE BIODIVERSITY AND GENE POOL OBJECT IN ANIMAL INDUSTRIES

Aims. Definition of the purpose, values and units of preservation of a biodiversity, and also gene pool object in animal industries. **Methods.** On the basis of analysis SoW-AnGR, FAO, 2007b and modern base genetic knowledge we submit the general circuit of formation of an overall objective, the certain spectrum of values and preservation of their genetic basis – of the genofund (alleles pool) of agricultural animals. And as elementary unit of preservation acts, suggested by us, concept «gene pool object». **Results.** The purposes, values and units of preservation of a biodiversity are established, and also the concept is offered and definition «gene pool object» in animal industries is given. **Conclusions.** Combination of values selected for long-term preservation of set of populations, as well as specific value of each of them, can and should be based on the following categories (kinds or bases of values): economic, ecological (including landscape), historical, cultural, social, medical, scientific, and in the future – and on others, for the present the unknown to us. Basic unit of preservation of a biodiversity of animal industries is breed, and additional (auxiliary) – species (a sort or a subspecies), intrabreed (zonal) type (spawn), separate animals outstanding in the breeding attitude.

Key words: purposes, values and units of preservation, gene pool object.

ЗАЙКА Є.В.¹, СОЗІНОВ О.О.^{2,3}, КАРЕЛОВ А.В.², КОЗУБ Н.О.², ФЛЕНКО О.Л.⁴, СОЗІНОВ І.О.²

¹ *Національний Науковий Центр «Інститут землеробства НААН України»*

Україна, 08162, Київська обл., Києво-Святошинський р-н, смт. Чабани, вул. Машинобудівників, 2б,

e-mail: za-ika@mail.ru

² *Інститут захисту рослин НААН*

Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 33, e-mail: sia1@i.com.ua

³ *ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАНУ»*

Україна, 04123, Київ, вул. Осиповського, 2а,

⁴ *Лабораторія провідних біотехнологій «Неоген»*

Україна, 04112, Київ, вул. Олени Телізи, 4, e-mail: info@neogene.com.ua

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ ПОМІРНОЇ НЕРАСОСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ ДО ХВОРОБ *Sr2/Lr27* ТА *Lr34/Yr18/Pm38* У СОРТАХ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ННЦ «ІНСТИТУТ ЗЕМЛЕРОБСТВА НААН»

При створенні сортів пшениці для Полісся і Північного Лісостепу основним напрямком селекційної роботи залишається підвищення стійкості до хвороб, оскільки вона може серйозно вплинути на реалізацію потенціалу продуктивності [1]. Останнім часом увагу дослідників все більше привертають гени, асоційовані з расонеспецифічною стійкістю, тому актуальним є

пошук донорів та джерел такої стійкості серед існуючих сортів м'якої пшениці.

Локус *Lr34* у відповідному алельному стані (далі – *Lr34+*) асоціюється з расонеспецифічною стійкістю до бурої іржі (збудник – *Puccinia triticina* f. sp. *tritici*), жовтої іржі (збудник – *P. striiformis* f. sp. *Triticici*), де його позначали як *Yr18* [2], борошнистої роси (збудник – *Blumeria*

graminis (DC.) Speer), де він відомий як *Pm38* [3], толерантністю до вірусу жовтої карликовості ячменю [4] та (ймовірно) до стеблової іржі (збудник – *P.graminis* f. sp. *tritici*) [30]. Зовнішнім проявом *Lr34*-стійкості є некроз кінчиків листків, який у окремих випадках можна використовувати як фенотиповий маркер у польових умовах [4]. Вважають, що алель *Lr34+* зберігає свої властивості більше 100 років [5]. Також, згідно з попередніми дослідженнями, цей алель зустрічається і серед сортів пшениці української селекції [6].

Локус *Sr2* був інтрогресований із сорту Ярослав полби-двозернянки (*Triticum turgidum* L. ssp. *dicocum*) у сорт м'якої пшениці Marquiz у 20 роках минулого століття. В результаті були виведені стійкі до хвороб сорти м'якої пшениці Норе та Н44-24 [7]. Ген *Sr2* вже вісімдесят років зберігає здатність на помірному рівні протистояти усім відомим патотипам стеблової іржі пшениці, в тому числі небезпечної раси Ug99, чим привернув до себе увагу багатьох

Матеріали і методи

Для аналізу були взяті сорти м'якої пшениці, що виведені в ННЦ «Інститут землеробства НААН України». Були проаналізовані 9 ярих сортів і 28 озимих. Серед них: озимий сорт Ольжана (в цей час знаходиться на державному сорто випробуванні), а також нові перспективні сорти І315-12 (Іродона), І349-12 (Кесарія). Також взяті для дослідження сорти озимої пшениці Київська напівкарликова (створений в Інституті фізіології рослин і генетики НАН з сорту Поліська-70) і Київська-73. Насіння було одержане з колекції Інституту землеробства та з Національного центру генетичних ресурсів рослин України, м. Харків.

ДНК виділяли за допомогою наборів Diatom™ DNA Prep 100 (торговий представник в Україні – фірма NEOGENE®) за стандартним протоколом. Маркерами молекулярних мас слугували GeneRuler™ 50 bp DNA Ladder ready-to-use (фірма Fermentas). ПЛР проводили за допомогою наборів GenPak® PCR Core (торговий представник в Україні – фірма NEOGENE®) відповідно до рекомендацій. Результати ПЛР візуалізували шляхом електрофорезу у 2–2,5 % агарозному гелі із 1xTBE буфером та фарбуванням бромистим етидієм.

Для визначення алельного стану гена *Lr34/Yr18/Pm38* був використаний алель-специфічний маркер *caISBP1* (insertion site-based polymorphism marker) [10]. Цей кодомінантний

міжнародних програм [8]. Локус *Sr2* також асоціюється із геном ювенільної стійкості до бурої іржі *Lr27* (для достатнього рівня експресії якого, проте, необхідною є присутність у геномі відповідної алельної форми гену *Lr31*) і, ймовірно, зі стійкістю до борошнистої роси [9]. *Sr2*-стійкість пов'язана з проявом «несправжнього почорніння соломини» («pseudo-black chaff», або *Pbc*), що зумовлює темну пігментацію стеблових міжвузлів та колоскових лусок. Браун [9] описав також інший фенотиповий маркер, – хлорозу листків пшениці у фазі сходів за високої температури (+22°C).

Метою дослідження була ідентифікація алельного стану маркерів, які вказують на алельний стан генів *Lr34/Yr18/Pm38* та *Sr2/Lr27*, що обумовлюють помірну нерасоспецифічну стійкість до іржастих хвороб пшениці у дорослих рослин (adult plant resistance) в сортах української селекції, створених в умовах Поліської та Лісостепової зон України.

маркер знаходиться між локусом *Lr34*, що кодує так званий ABC-транспортер, та першим цитохромом *P450* в ділянці, яка впливає на експресію стійкості. У випадку «стійкого» алельного стану з одним із «форвард»-праймерів та єдиним «реверс»-праймером відпалюється фрагмент довжиною 509 п.н., у випадку «чутливого» алельного стану з іншим «форвард»-праймером та тим самим «реверс»-праймером – амплікони довжиною 391 п.н [10]. Для *Lr34/Yr18/Pm38* як сорти стандарти алельних станів використовували Chinese Spring («стійкий» алельний стан, *St+*) та Thatcher («чутливий» алельний стан, *St-*).

З метою ідентифікації алельного стану локусу *Sr2/Lr27* був використаний маркер *csSr2* [11]. «Стійкий» та «чутливий» алельні стани маркера, відрізняються по одонуклеотидній заміні, яка, у випадку «стійкого» стану є сайтом рестрикції для ендонуклеази *BspHI*. Якщо ампліфікація і наступне розділення продукту довжиною 337 п.н. з допомогою ендонуклеази в результаті дають три фрагменти (172, 53 і 112 п.н.) – це свідчить про «стійкий» алельний стан гена у 100 % випадків (так звана «Норе-алель»), якщо отримано два фрагменти (225 й 112 п.н.) – у 5 % випадків («Marquiz-алель»). Відсутність ампліконів свідчить про чутливість до стеблової іржі («нуль-алель»). В якості позитивного контролю для *Sr2/Lr27* використовували сорти Renown та Selkirk.

Результати та обговорення

Серед досліджуваних 37 сортів селекції Інституту землеробства не знайдено жодного з «*Hope*-алелем» (табл. 1). Проте у 5 (13,5 %) сортів знайдено «*Marquiz*-алель»: Щедра Полісся, Поліська-90, Поліська-95, Аналог, Епілог. Схожі результати демонструють попередні дослідження сортів м'якої пшениці української селекції СГІ [12]. Але не можна стверджувати, що у сор-

тів Інституту землеробства відсутня стійкість, асоційована з геном *Sr2*. Для всіх сортів, у яких був визначений «*Marquiz*-алель», є 5 % вірогідність наявності стійкості, пов'язаної з геном *Sr2*. Така стійкість, наприклад, зустрічається в сортах закордонної селекції *Siete-Cerros*, *Derrimut*, *Kukri*, *Arthur71*, *Ellison*, *Kenya Plume*, що несуть «*Marquiz*-алель».

Таблиця 1. Алельний стан локусів *Lr34/Yr18/Pm38* та *Sr2/Lr27* у сортах м'якої пшениці селекції ННЦ «Інститут землеробства НААН» («+» – «стійкий» алельний стан, «-» – «чутливий» алельний стан, «null» – «нуль-алель» генного локусу *Sr2*, «М» – «*Marquiz*-алель» генного локусу *Sr2*

Сорт	Рік районування	<i>Lr34/Yr18/Pm38</i>	<i>Sr2/Lr27</i>	Сорт	Рік районування	<i>Lr34/Yr18/Pm38</i>	<i>Sr2/Lr27</i>
Озимі				Озимі			
Поліська-71	1971	+/-	null	Бенефіс	2008	+	null
Поліська-70	1974	+	null	Епілог	2009	-	М
Київська-73	1974	+	null	Краєвид	2012	-	null
Колективна-77	1974	-	null	Ольжана		-	null
Київський н.-к.	1977	+	null	Журавка		+	null
Поліська безоста	1981	+	null	Мірютінка		+/-	null
Поліська-80	1982	+	null	Поліська-107		+/-	null
Щедра Полісся	1986	-	М	І315-12		+	null
Поліська-87	1990	+/-	null	І349-12		+/-	null
Поліська-92	1992	+/-	null	Ярі			
Поліська-90	1994	-	М	Рання-73	1978		null
Поліська-1259	1995	-	null	Дніпрянка	1982		null
Поліська-29	1996	+/-	null	Рання-93	1996		null
Поліська-95	1996	+/-	М	Скороспілка-95	2000		null
Копилівчанка	2003	-	null	Скороспілка-98	2001		null
Столична	2005	+	null	Скороспілка-99	2003		null
Гном	2007	-	null	Вітка	2003		null
Артеміда	2008	+	null	Недра	2007		null
Аналог	2008	+	М	Черемшина	2012		null

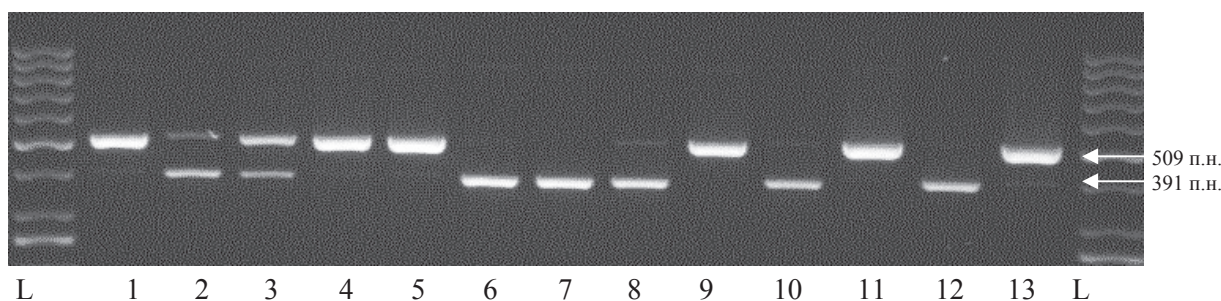


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ПЛР, отриманих із зразками ДНК сортів озимої м'якої пшениці Інституту землеробства та праймерами, що фланкують маркер *caISBP1* (генного локусу *Lr34*): 1 – Поліська-80; 2 – Поліська-87; 3 – Поліська-107; 4 – Журавка; 5 – Столична; 6 – Епілог; 7 – Гном; 8 – Краєвид; 9 – Артеміда; 10 – Копилівчанка; 11 – Аналог; 12 – Thatcher (St-); 13 – Chinese Spring (St+); L – маркер молекулярних мас (50 bp DNA Ladder)

Серед 28 зразків озимої пшениці селекції Інституту землеробства 11 показали «стійкий» алельний стан маркера caISBP1, а саме: Столична, Артеміда, Аналог, Бенефіс, Поліська-70, Поліська безоста, Київська-73, Київська напівкарликова, Поліська-80, Журавка, ІЗ15-12. У дев'яти сортах алельний стан маркера відповідав «чутливому» алельному стану локусу Lr34: Поліська-90, Колективна-77, Щедра Полісся, Епілог, Гном, Краєвид, Копилівчанка, Ольжана, Поліська-1259. Вісім зразків показали поліморфізм за даним маркером: Поліська-95, Поліська-71, Поліська-87, Поліська-107, Поліська-29, Поліська-92, Мірютінка, ІЗ49-12. Стьйкість, обумовлена Lr34, однаково поширена як в сортах, що створені до 1990 року, так і в сортах періоду 1992-2012.

Присутність стійкості, пов'язаної із локу-

Висновки

З усіх сортів м'якої пшениці, створених в ННЦ «Інститут землеробства НААН» для вирощування в зоні Полісся та Лісостепу, жоден не має «Норе-алеля». Зважаючи на присутність у родоводах сортів з «Норе-алелем», можна припустити, що деякі сорти (13,5 %) Інституту землеробства мають стійкість, асоційовану із геном *Sr2*, оскільки мають «Marquiz-алель», що зумовлює стійкість у 5 % випадків. Алель *Lr34+*

сом Lr34 в сортах місцевої селекції свідчить про його широке адаптивне значення, яке не втратило актуальності і до сьогодні. З огляду на характер експресії стійкості за Lr34 типом, ймовірно, що у сортах, які мають алель Lr34+, повинні експресуватись й інші гени, пов'язані зі стійкістю до іржастих грибів. Це, а також специфіка селекційного процесу в Інституті землеробства (а саме, використання помірних інфекційних фонів), могло б пояснити відбір генетичного матеріалу з алелем Lr34+ в процесі селекції. Крім того, отримані дані підтверджують той факт, що у родоводі сортів, які несли алель Lr34+ маркера caISBP1, присутній сорт Безоста 1, котрий вважають джерелом Lr34-стійкості як для українських, так і світових сортів пшениці [13].

присутній у 11 (39 %) досліджуваних сортів озимої пшениці; при чому однаково поширений як в сортах, що створені до 1990 року, так і в сортах 1992–2012 рр. Це вказує на його важливе адаптивне значення. Сорти, в яких ідентифіковано стійкість до хвороб на основі гена *Lr34*, можна залучати до селекції або інших досліджень з використанням молекулярно-генетичних маркерів.

Література

1. Котко І.К. Розвиток наукових досліджень з питань селекції озимої пшениці на Поліссі // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть. – К: Логос, 2001. – Т.2. – С. 433–436.
2. Singh R.P. Genetic Association of Leaf Rust Resistance Gene *Lr34* with Adult Plant Resistance to Stripe Rust Resistance in Bread Wheat // *Phytopathology*. – 1992. – V. 82, No. 8. – P. 835–838.
3. Spielmeier W., McIntosh R.A., Kolmer J., Lagudah E.S. Powdery mildew resistance and *Lr34/Yr18* genes for durable resistance to leaf and stripe rust co segregate at a locus on the short arm of chromosome 7D of wheat // *Theor. Appl. Genet.* – 2005. – V.111. – P. 731–735.
4. Shah S.J.A., Hussain S., Ali I., Ibrahim M., Ahmad M., Farhatullah Using leaf tip necrosis as a phenotypic marker to predict the presence of durable rust resistance gene pair *Lr34/Yr18* in wheat // *J. Gen. Plant Pathol.* – 2011. – V.77 – P. 174–177.
5. Krattinger S. G. et al A Putative ABC Transporter Confers Durable Resistance to Multiple Fungal Pathogens in Wheat // *Science* 323, P. 1360 – 1363, – 2009. – supporting online material: www.sciencemag.org/cgi/content/full/1166453/DC1.
6. Dakouri A., McCallum B.D., Walichnowski A.Z., Cloutier S. Fine-mapping of the leaf rust *Lr34* locus in *Triticum aestivum* L. and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as essential for gene function // *Theor Appl Genet.* – 2010. – V. 121. – P. 373–384.
7. McFadden E. S. A successful transfer of emmer characters to vulgare wheat // *Agron. J.* – 1930. – V.22. – P. 1020–1034.
8. L-X. Yu, Lorenz A., Rutkoski J., Singh R.P., Bhavani S., Huerta-Espino J., Sorrells M.E. Association mapping and gene-gene interaction for stem rust resistance in CIMMYT spring wheat germplasm // *Theor. Appl. Genet.* – 2011. – V. 123. – P. 1257–1268.
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. – V. 95. – P. 67–71.
10. Dakouri A., McCallum B.D., Walichnowski A.Z., Cloutier S. Fine-mapping of the leaf rust *Lr34* locus in *Triticum aestivum* L. and characterization of large germplasm collections support the ABC transporter as essential for gene function // *Theor Appl Genet.* – 2010. – V. 121. – P. 373–384.

11. McNeil M.D., Kota R., Paux E., Dunn D., McLean R., Feuillet C., Li D., Kong X., Lagudah E., Zhang J.C., Jia J.Z., Spielmeyer W., Bellgard M., Apples R. BAC-derived markers for assaying the stem rust resistance gene, *Sr2*, in wheat breeding programs // *Mol. Breeding*, 2008. – V. 22. – P. 15–24.
12. Карелов А.В., Пірко Я.В., Блюм Я.Б., Козуб Н.О., Созінов І.О., Созінов О.О., Литвиненко М.А. Поліморфізм молекулярно-генетичного маркеру *csSr2* серед сортів м'якої пшениці селекції СГІ // Міжн. наук. конф. «Селекція та генетика сільськогосподарських рослин: традиції та перспективи» (до 100-річчя Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення), Одеса. – 2012. – С. 154–155.
13. Карелов А.В., Пірко Я.В., Козуб Н.А., Созинов И.А., Пірко. Н.Н, Блюм Я.Б., Литвиненко Н.А., Лыфенко С.Ф., Колочий В.Т., 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.

ZAİKA I.V.¹, SOZINOV A.A.^{2,3}, KARELOV A.V.², KOZUB N.A.², FILENKO A.L.⁴, SOZINOV I.A.²

¹ *National Science Center «Institute of Agriculture NAAS»*

Ukraine, 08162, Kiev region, Kievo-Sviatoshinskij district, Tchabany, Mashinobudivnikiv str., 2b, e-mail: zaika-@mail.ru

² *Institute of plant protection NAAS*

Ukraine, 03022, Kiev, Vaselkivska str., 33, e-mail: sia1@i.com.ua

³ *Institute of food biotechnology and genomics*

Ukraine, 04123, Kiev, Osipovskogo, 2a

⁴ *Laboratory of guiding biotechnology «Neogene»*

Ukraine, 04112, Kiev, Oleni Teligi, 4, e-mail: info@neogene.com.ua

POLYMORPHISM OF THE MODERATE NON-RACE-SPECIFIC DISEASE RESISTANCE GENE *Sr2/Lr27* AND *Lr34/Yr18/Pm38* IN BREAD WHEAT CULTIVARS OF NSC «INSTITUTE OF AGRICULTURE NAAS» BREEDING

Aims. The object of our investigation is allelic state identification of *Sr2/Lr27* and *Lr34/Yr18/Pm38* gene in bread wheat cultivars of Polissia. **Methods.** Allelic state of the *Lr34* gene was identified with the molecular-genetic marker *caISBP1* use and marker for *Sr2/Lr27* locus was *csSr2*. **Results.** In five cultivars (13,5 % of the total number) was detected the «Marquiz-allele» and rest had the «null allele» of *Sr2* locus. The «resistant» allelic state of *Lr34* gene (*Lr34+*) was identified in 11 cultivars (39 %). The «susceptible» allelic state of *Lr34* was identified in 9 wheat cultivars (32 %) and 8 (29 %) cultivars showed polymorphism at the *Lr34* locus. **Conclusions.** It is necessary to involve in wheat breeding process the *Lr34* and *Sr2* gene, because it is valuable source of disease resistance.

Key words: stem rust, Ug99, bread wheat, resistance, *Sr2*, *Lr34*.

ЗЕМЦОВА Л.В.¹, АМОСОВА А.В.¹, САМАТАДЗЕ Т.Е.¹, ГРУШЕЦКАЯ З.Е.², ВОЛОВИК В.Т.³, ЗЕЛЕНИН А.В.¹, ЛЕМЕШ В.А.², МУРАВЕНКО О.В.¹

¹ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН*

Россия, 119991, Москва, ул. Вавилова, 3,; e-mail: olgmur1@yandex.ru

² *Государственное научное учреждение Институт генетики и цитологии НАН Беларуси*

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

³ *Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Всероссийский научно-исследовательский институт кормов им. В.П. Вильямса РАСХН*

Россия, 141005, Московская область, г. Лобня, Научный городок, e-mail: vik_volovik@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ МАРКЕРОВ СОРТОВ РАПСА РОССИЙСКОЙ И БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Рапс масличный (*Brassica napus oleifera* D.C.) является представителем семейства капустных (*Brassicaceae*). Различают его яровую

(*B.napus oleifera annua* Metzg.) и озимую (*B.napus oleifera biennis* Metzg.) формы. Рапс ($2n=38$, ААСС) является природным аллополип-

лоидом. Этот вид появился, в результате естественного скрещивания капусты обыкновенной (*Brassica oleracea* L., $2n=18$, С-геном) и сурепицы (*Brassica rapa* L., $2n=20$, А-геном) с последующим удвоением числа хромосом [10].

Рапс является хозяйственно ценной культурой: источником пищевого масла, полноценного корма для скота, сырья для биотоплива [1]. Для успешного выведения новых высокопродуктивных сортов рапса необходимо выявление надежных генетических (молекулярных и хромосомных) маркеров у разных сортов. Для этого требуется, в первую очередь, достаточно простая идентификация всех хромосом, поскольку эта проблема до сих пор полностью не решена.

Материалы и методы

Семена 13 сортов рапса, выведенные в России и Беларуси, получены из ФГБУН Всероссийского научно-исследовательского института кормов им. В.Р. Вильямса РАСХН (г. Москва) и РУП «НПЦ по земледелию НАН Беларуси» (г. Жодино, Беларусь) (табл.).

Хромосомные препараты готовили по методике, разработанной ранее для мелкохромосомных растений. С- и DAPI -

Результаты и обсуждение

Кариотип рапса состоит из 38 хромосом, которые характеризуются небольшими размерами, бедным рисунком С-бэндинга [8] и незначительными отличиями по морфологическим критериям (длина, центромерный индекс и т.д.). В связи с этим, результаты морфологического анализа хромосом рапса у различных авторов неоднозначны. В данной работе использована классификация, предложенная ранее в работе Olin-Fatih и Neneen (1992), которая, в основном, базируется на результатах С-дифференциального окрашивания хромосом рапса.

Хромосомы кариотипов всех изученных сортов рапса были разделены по морфологическим показателям на 3 группы: первая группа – метацентрические хромосомы (7 пар), вторая – субметацентрические хромосомы (6 пар), третья группа – акроцентрические хромосомы (6 пар). У всех сортов рапса наблюдался сходный характер распределения С-блоков на хромосомах. Крупные С-бэнды, в основном, располагались в прицентромерных районах, а небольшие и средние – в теломерных и интеркалярных районах хромосом. Такая картина распределения С-блоков на хромосомах характерна для многих мелкохромосомных видов растений [7]. Были выявлены дополнительные интеркалярные С-

Хромосомы рапса сравнительно мелкие (1,53–3,3 мкм) [4] с малоинформативным рисунком С-бэндинга [8]. FISH-анализ выявил на них значительное количество полиморфных сайтов рибосомных генов [6, 9, 5]. Вместе с тем, в литературе нет данных о попытках использования рисунков С-бэндинга и распределения сайтов рибосомных генов на хромосомах для идентификации хромосом и изучения внутривидового полиморфизма рапса.

В настоящей статье проведено исследование геномов сортов ярового и озимого рапса российской и белорусской селекции с помощью С- и DAPI-бэндинга и локализации сайтов 26S и 5S рДНК.

дифференциальное окрашивание хромосом, а также FISH с зондами 26S и 5S рДНК проводили в соответствии с подходом, разработанным ранее [3, 7].

Анализ метафазных пластинок проводили при помощи флуоресцентного микроскопа Olympus BX61c черно-белой ПЗС камерой CoolSnap («Roper ScientificInc», США).

бэнды, облегчающие идентификацию хромосом, благодаря использованию в нашей работе интеркалятора ДНК-9 аминокридина (9-АМА), который позволяет получать метафазные пластинки с удлинёнными хромосомами (1.5–3.7 мкм).

Сравнительный анализ хромосом изучаемых нами сортов рапса показал, что они полиморфны по рисунку С-бэндинга. В частности, была обнаружена значительная варибельность по длине вторичной перетяжки спутничной хромосомы 14 у всех сортов рапса, что, вероятно, связано с различным функциональным состоянием ядрышкообразующих районов хромосом.

Ранее выявлено, что количество гетерохроматина в кариотипе зависит от условий произрастания вида [2]. В результате проведенного нами визуального анализа показано, что хромосомы и ядра озимых сортов рапса содержат больше гетерохроматина, чем сорта ярового типа развития. Озимые сорта характеризуются наличием более крупных прицентромерных и теломерных С-бэндов. Известно, что озимый рапс отличается от ярового более высокими показателями морозостойкости (минус 8–10 °С), урожайности и масличности, в то время как яровой

рапс менее требователен к условиям произрастания. Наблюдаемые различия в рисунках С-окраски хромосом между яровыми и озимыми сортами рапса, могут быть связаны с особенностями адаптивных свойств этих сортов.

С помощью метода двуцветной FISH с зондами 26S и 5S рДНК проведена локализация

на хромосомах сайтов рибосомных генов у всех изученных сортов рапса. Идентификацию хромосом после процедуры FISH проводили по рисунку DAPI-окрашивания, который был подобен С-бэндингу. В таблице представлено общее количество хромосом, несущих сайты 26S и/или 5S рДНК, в кариотипах изученных сортов рапса.

Таблица. Результаты FISH с пробами 26S и 5S рДНК для изученных сортов рапса

№	Название сорта	Тип развития	Происхождение	Количество хромосом в кариотипе с сайтами гибридизации	
				5S рДНК	26S рДНК
1	Грант	яровой	Россия	16	12
2	Луговской	яровой	Россия	16	12
3	Новик	яровой	Россия	12–14	10–14
4	Подмосковный	яровой	Россия	16	14
5	Гедемин	яровой	Беларусь	14	14
6	Гермес	яровой	Беларусь	16	14
7	Прамень	яровой	Беларусь	14	12
8	ВИК-2	озимый	Россия	16	14
9	Гарант	озимый	Россия	14	12
10	Северянин	озимый	Россия	14–16	12–14
11	Добродей	озимый	Беларусь	14	12
12	Мартын	озимый	Беларусь	14	12
13	Маяк	озимый	Беларусь	14	12

Как видно из таблицы, у яровых российских сортов наблюдали от 10 до 14 сайтов 26S рДНК и от 12 до 16 сайтов 5S рДНК, тогда как у яровых белорусских сортов наблюдалось 12–14 сайтов 26S рДНК и 14–16 сайтов 5S рДНК. У озимых российских сортов локализовано 12–14 сайтов 26S рДНК и 14–16 сайтов 5S рДНК, у белорусских озимых сортов выявлено от 12–14 сайтов 26S рДНК, и 14 сайтов 5S рДНК.

Сайты 26S и 5S рДНК были локализованы в проксимальных и медианных районах длинных плеч, а также в субтеломерных районах коротких плеч хромосом 4, 5, 6, 8, 10, 14, 15, 16 и

18. Наблюдались как отдельная локализация этих зондов, так и их колокализация. В кариотипах всех изученных сортов отдельные сигналы 5S рДНК расположены в проксимальном и медианном районах длинного плеча хромосомы 8 и в субтеломерном районе короткого плеча хромосомы 18. Колокализованные сайты 26S и 5S рДНК наблюдали в области вторичных перетяжек спутничных хромосом 14 и 15, а также в проксимальных районах длинных плеч хромосом 4, 5, 6, 10. В субтеломерном районе короткого плеча хромосомы 16 у большинства сортов выявляется отдельный сигнал 26S рДНК.

Эти результаты согласуются с данными других авторов. Количество пар хромосом, несущих сайты 26S, колокализованные с сайтами 5S рДНК, в работах разных авторов менялось от 3 [6, 9, 5, 11] до 4 [5]. Мы наблюдали на хромосомах разных сортов 4-6 сайтов 26S, колокализованных с сайтами 5S рДНК. Причем, в наших экспериментах на спутничных хромосомах обнаружено только колокализованные сайты 26S и 5S рДНК.

В нашем исследовании выявлено от 6 до 8 пар локусов 5S рДНК на кариотип. В цитированных выше работах описывается меньшее число этих локусов (от 5 до 7 пар на кариотип), что может быть связано с особенностями кариотипов разных сортов рапса или с условиями их произрастания. Однако, не исключено, что благодаря использованию в нашей работе интеркалятора ДНК 9 – АМА, позволяющего получать метафазные пластинки с более длинными хромосомами, чувствительность нашего метода выявления сигналов гибридизации выше, чем у других авторов.

Сравнительное изучение результатов FISH с зондами рибосомных генов показало, что по распределению на хромосомах и размерам (интенсивности) сигналов гибридизации 5S и 26S рДНК у сортов рапса также наблюдался межсортовой полиморфизм. Так, на хромосоме 16 сигнал гибридизации сайтов 26S рДНК имеет крупные размеры у всех озимых сортов, небольшие размеры у яровых сортов Гермес, Новик, Подмосковный и Гедемин. У яровых сортов Грант, Луговской и Прамень данный сигнал полностью отсутствует. У всех яровых сортов в проксимальной области длинного плеча хромосомы 10 выявляются колокализованные сигналы 5S и 26S рДНК. У большинства изученных озимых сортов (кроме сорта Северянин) на этой хромосоме сигналы полностью отсутствуют. У

нескольких яровых сортов (Новик, Гедемин, Прамень) мы наблюдали отдельный крупный сигнал 26S рДНК в проксимальной области длинного плеча хромосомы 4, в то время как у остальных яровых и у всех озимых сортов на данной хромосоме колокализируются сигналы 5S и 26S рДНК. Отметим, что по числу сайтов локализации 26S и 5S рДНК белорусские сорта отличались меньшей вариабельностью по сравнению с российскими сортами (табл.), что указывает на их относительно более высокую генетическую однородность.

У сортов российской селекции Новик и Северянин был выявлен внутрисортовой полиморфизм по числу сайтов рибосомных генов. На хромосоме 10 у них наблюдались полиморфные колокализованные сигналы 26S и 5S рДНК, которые у некоторых растений отсутствовали. У сорта Новик обнаружен также полиморфный сигнал 26S рДНК на хромосоме 16.

Таким образом, в результате проведенного сравнительного молекулярно-цитогенетического исследования выявлен полиморфизм по рисунку С-бэндинга, по числу и распределению сайтов рибосомных генов на хромосомах 13 сортов рапса, имеющих разные селекционные истории, с учетом ярового или озимого типа развития. Выявленный полиморфизм важен для характеристики сорта и может использоваться для идентификации отдельных хромосом. Составлена обобщенная видовая идиограмма генома рапса с учетом всех вариантов рисунка С-окрашивания и расположения сайтов 26S и 5S рДНК. На основе предложенного цитогенетического анализа в дальнейшем возможен отбор перспективных для селекции сортов рапса и/или предоставления рекомендаций по выбору сортов для выращивания в различных эколого-географических зонах.

Работа поддержана грантами РФФИ № 11-08-00716, 12-04-90046 Программой фундаментальных исследований РАН «Динамика генофондов растений, животных и человека» Президиума РАН.

Литература

1. Воловик В.Т. Качество семян рапса перспективных сортов селекции ГНУ ВИК Россельхозакадемии // Материалы Всероссийской научно-практической конференции по кормопроизводству. – Казань. – 2011. – С. 71–75.
2. Саматадзе Т.Е., Зеленин А.В., Суслина С.Н. и др. Сравнительная цитогенетическая характеристика форм *Macleaya cordata* (Willd.) R. Br. Из различных мест произрастания // Генетика. – 2012. – Т. 48. – № 1. – С. 72–79.
3. Семенова О.Ю., Саматадзе Т.Е., Зеленин А.В., Муравенко О.В. Сравнительное изучение геномов видов льна секции *Adenolinum* и *Stellerolinum* с использованием флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) // Биол. Мембраны. – 2006. – Т. 23, №6. – С. 453–460.
4. Hasterok R., Maluszynska J. Cytogenetic markers of *Brassica napus* chromosomes // Journal of Applied Genetics.

- 2000. – Vol. 41. – P. 1–9.
5. Hasterok R., Wolny E., Hosiawa M. et al., Comparative analysis of rDNA distribution in chromosomes of various species of *Brassicaceae* // *Ann. Bot.* – 2006. – V. 97. – P. 205–216.
 6. Kamisugi Y., Nakayama S., O'Neil C.M. et al. Visualization of the *Brassica* self-incompatibility S-locus on identified oilseed rape chromosomes // *Plant Molecular Biology.* – 1998. – Vol. 38. – P. 1081–1087.
 7. Muravenko O.V., Yurkevich O.YU., Bolsheva N.L. et al, Comparison of genomes of eight species of sections *Linum* and *Adenolinum* from the genus *Linum* based on chromosome banding, molecular markers and RAPD analysis // *Genetika.* – 2009. – V. 135, №2. – P. 245–255.
 8. Olin-Fatih M. and Heneen W.K. C-banded karyotypes of *Brassica campestris*, *B. oleracea* and *B. napus* // *Genome.* – 1992. – Vol. 35. – P. 583–589.
 9. Snowdon R. J., Friedrich T., Friedt W., Kohler W. Identifying the chromosomes of the A- and C-genome diploid *Brassica* species *B. rapa* (syn. *campestris*) and *B. oleracea* in their amphidiploid *B. napus* // *Theor. Appl. Genet.* – 2002. – Vol. 104. – P. 533–538.
 10. U N. Genome-analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization // *Japanese Journal of Botany.* – 1935. – Vol. 7. – P. 389–453.
 11. Xiong Z. and Pires J.C. Karyotype and identification of all homoeologous chromosomes of allopolyploid *Brassica napus* and its diploid progenitors // *Genetics.* – 2011. – Vol. 187. – P. 37–49.

ZEMTSOVA L.V.¹, AMOSOVA A.V.¹, SAMATADZE T.E.¹, GRUSHETSKAYA Z.E.²,
VOLOVIK V.T.³, ZELENIN A.V.¹, LEMESH B.A.², MURAVENKO O.V.¹

¹ Engelgardt Institute of Molecular Biology of RAS

Russia, 119991, Moscow, Vavilov str., 32, e-mail: olgmur1@yandex.ru

² The Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus

Belarus, 220072, Minsk, Academichnaya str., 27, e-mail: v.lemesh@igc.bas-net.by

³ All-Russian Williams Fodder Research Institute of RAAS

Russia, 141005, Lobnya, Moscow region, e-mail: vik_volovik@mail.ru

CHROMOSOME MARKERS STUDY OF RAPE VARIETIES OF RUSSIAN AND BELORUSSIAN SELECTION

Aims. Dependable marking of rape chromosomes is necessary for breeding of agriculturally important varieties. Using chromosome markers the karyotypes of 13 spring and winter rape varieties of Russian and Belorussian selection were studied. **Methods.** C-, DAPI-banding and FISH with 26S and 5S rDNA were used. **Results.** More informative C/DAPI-banding was obtained by using DNA intercalator 9-aminoacridine, and rape chromosome identification was made. 26S and 5S rDNA loci were localized on chromosomes 4, 5, 6, 8, 10, 14, 15, 16 and 18. Intra- and intervarietal polymorphism of these chromosome markers was found. **Conclusions.** The generalized species karyogram that included all the alternates of C/DAPI-patterns as well as 26S and 5S rDNA localization was constructed.

Key words: rape varieties, chromosome markers, polymorphism.

ИШМУРАТОВА Н.М., ЯКОВЛЕВА М.П., ТАМБОВЦЕВ К.А., ИШМУРАТОВ Г.Ю.

Институт органической химии Уфимского научного центра Российской академии наук

Россия, 450054, г. Уфа, проспект Октября, 71, e-mail: insect@anrb.ru

ПРОТИВОРОЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ТОС-3 НА ТРУТНЕВОМ РАСПЛОДЕ

Ранее нами был разработан эффективный способ противороевой обработки пчелиных семей в начальной фазе роевого состояния (в развивающейся и развитой стадии) внесением в роевые мисочки разработанного и сертифицированного нами феромонного препарата ТОС-3 на основе синтетически полученной 9-оксо-2Е-деценовой кислоты (9-ОДК) – главного компо-

нента маточного вещества медоносных пчел [1, 2]. При этом отмечался возврат пчелиных семей в рабочее состояние, сопровождаемый тихой сменой матки. Кроме того, было показано, что роевые мисочки, являясь биологически активными точками, не равнозначны: наиболее важными из них являются мисочки с яйцами и личинками, чаще всего посещаемые пчелами.

Материалы и методы

В данной статье предлагаем новый вариант противороевой обработки пчелиных семей феромонным препаратом ТОС-3. При его создании предположили, что воздействием на открытый трутневый расплод, появляющийся в гнезде пчел на еще более ранней стадии подготовки к роению – до отстройки роевых мисочек – феромонными препаратами на основе маточного вещества, в частности ТОС-3, можно регулировать протекание роевого процесса. При этом, опирались на результаты собственных многолетних наблюдений за пчелиными семьями, в которых при обработке вышеназванными феромонными препаратами, содержащими 9-ОДК, уменьшалось количество трутней, вплоть до полного их исчезновения.

Опыты проводились весной-летом 2012 г. в Бирском районе Республики Башкортостан на пчелах среднерусской породы. Были подобраны две группы пчелиных семей-аналогов (по 5

семей в каждой), одинаковые по силе, количеству расплода и кормовых запасов, а также по степени поражения варроатозом. Из расплодной части гнезда удаляли соты с трутневыми ячейками. В центре гнезда в середине сота делали вырез 7x7 см, куда вставляли участок трутневого сота от строительных рамок. Далее в каждой семье эти участки сотов обрабатывали с помощью «Росинки» 5 мл раствора, приготовленного разбавлением 2 мл препарата ТОС-3 40 %-ным этиловым спиртом до объема 50 мл. В контроле обработку вели 5 мл 40 %-ного этанола. Учитывали долю заложенных трутневых личинок в сравнении с общим количеством ячеек, равным 200, а также количество клещей в трутневом расплоде. После измерений участок сота вновь обрабатывали (всего 3 раза) той же дозой препарата.

Результаты и обсуждение

Было замечено значимое сокращение площади трутневого расплода при обработке препаратом ТОС-3 по сравнению с контролем

(табл. 1). В контроле трутневые ячейки использовались до 100 %.

Таблица 1. Влияние препарата ТОС-3 на использование под расплод трутневых ячеек (n=5)

Дата учета	Доля трутневых ячеек, %
22 мая	8,16±3,34***
29 мая	19,14±1,07***
5 июня	28,74±1,96***
12 июня	40,46±2,97***

Примечание. *** – уровень значимости; P > 0.999.

Нами также было отмечено значительное ингибирование развития клещей в обработанных ячейках подопытных семей с высокой степенью достоверности (табл. 2). В ряде случаев в исследованных участках при

вскрытии печатного трутневого расплода вообще не было обнаружено клеща. Это согласуется с данными о влиянии маточного феромона на возникновение аномалий при развитии клеща [3].

Таблица 2. Влияние препарата ТОС-3 на степень заклещенности трутневого расплода (n=5)

Группа семей	Заклещенность трутневого расплода, %	
	до обработки	после обработки
Опытная	5,2±0,58	1,4±0,51
Контрольная	4,8±0,80	6,0±0,71

Выводы

Таким образом, участки трутневых ячеек являются биологически активной зоной пчелиного гнезда, обработка которой синтетическим феромоном пчелиной матки

предотвращает возникновение роевого процесса на ранней стадии, а также уменьшает степень поражения варроатозом в обработанных участках сотов.

Литература

1. Толстикова Г.А., Ишмуратов Г.Ю., Тамбовцев К.А. и др. Способ противороевой обработки пчелиных семей // Патент РФ № 2045175 от 31.03.92.
2. Тамбовцев К.А., Салагаев К.А., Пырялин Г.Л., Яковлева М.П., Ишмуратов Г.Ю. Особенности применения препарата «Апирой» // Пчеловодство. – 2004. – № 3. – С. 13.
3. Масленникова В.И. Структурные элементы популяции клещей *Varroa jacobsoni* Oudemans, их возрастная репродуктивная активность и механизмы адаптации к изменениям биотических и абиотических факторов в гнезде пчел *Apis mellifera* L.: автореф. дисс. д-ра биол. наук. – М., 2002. – 47 с.

ISHMURATOVA N.M., YAKOVLEVA M.P., TAMBOVTSEV K.A., ISHMURATOV G.YU.

*Institute of Organic Chemistry Ufa Scientific Center of the Russian Academy of Sciences,
Russia, 450054, Ufa, Pr. Oktyabrya, 71. e-mail: insect@anrb.ru*

ANTISWARM ACTIVITY OF TOS-3 ON DRONE BROOD

Aims. Previously we suggested the way of antismarm treatment bee-families bringing in nest-bowls of the pheromone preparation TOS-3 developed by us. The aim of this work is development of new method of antismarm treatment using this preparation. **Methods.** A site of drone comb treated by the pheromone preparation TOS-3. **Results.** Considerable reduction of the area drone brood is noted when processing by the preparation TOS-3. **Conclusions.** Thus, sites of drone cells are biologically active zone of the bee nest which processing by a synthetic pheromone of a queen bee prevents emergence of swarm process at an early stage, and also reduces extent of defeat by varroaosis in the processed sites of comb.

Key words: pheromone, preparation TOS-3, antismarm activity, drone brood.

КАРЕЛОВ А.В.^{1, 2}, ПИЛИПЕНКО Л.А.¹, КОЗУБ Н.О.^{1, 2}, БОНДУС Р.О.³, ФЛЕНКО О.Л.⁴, СОЗИНОВ І.О.¹, БЛЮМ Я.Б.², СОЗИНОВ О.О.^{1, 2}

¹ Інститут захисту рослин Національної академії аграрних наук України

Україна, 03022, м. Київ, вул. Васильківська, 33, e-mail: hromogen-black@ukr.net

² Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки» Національної академії наук України

Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а, e-mail: iht@i.kiev.ua

³ Устимівська дослідна станція рослинництва Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України

Україна, 39074, с. Устимівка, Глобинський р-н, Полтавська обл., вул.Леніна, 15, e-mail: udsr@ukr.net

⁴ П.П. «Лабораторія провідних біотехнологій НЕО-ГЕН»

Україна, м. Київ, вул. Світлицького, 30/20-Б

ПОЛІМОРФІЗМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА ГЕНА *HI*, АСОЦІЙОВАНОГО ЗІ СТІЙКІСТЮ ДО ЗОЛОТИСТОЇ НЕМАТОДИ (*GLOBODERA ROSTOCHIENSIS*), СЕРЕД СОРТІВ КАРТОПЛІ (*SOLANUM TUBEROSUM* SSP. *TUBEROSUM*) УКРАЇНСЬКОЇ ТА СВІТОВОЇ СЕЛЕКЦІЇ

Золотиста картопляна цистоутворююча нематода *Globodera rostochiensis* Woll. є небезпечним паразитом картоплі (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) та карантинним об'єктом [1]. Цей багатоклітинний облигатний паразит є причиною регулярних втрат 12 % урожаю картоплі в світі [2], тоді як в окремих регіонах може спричиняти втрати від 10–15 [3–5] до 50–60 й більше відсотків [6, 7].

У світі широко впроваджуються сорти *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*, які несуть гени стійкості до золотистої картопляної немато-

ди, в свою чергу здебільшого інтрогредовані від диких родичів картоплі [8–10]. Ці гени обумовлюють стійкість за різним типом [11–18], однак наявність взаємодії ген-на-ген була доведена лише для гена *HI* [19] (він обумовлює стійкість до патотипів *Ro1* й *Ro4* золотистої нематоди [20] за надчутливим типом [21] і зберігає свої властивості вже протягом достатньо тривалого періоду часу [9]). Оскільки на території України *G. rostochiensis* представлена патотипом *Ro1*, для дослідження нами був обраний молекулярний маркер цього саме цього гена. Джерелом стійко-

сті, пов'язаної із геном *H1*, вважають дикорослий підвид *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* CPC 1673, сам ген було локалізовано на V хромосомі картоплі за допомогою RFLP маркерів *CP113* й *CD78* [22, 23] та широко впроваджено у комерційні сорти картоплі світової селекції [10]. В подальшому різні дослідники локалізували на цій хромосомі ще ряд генів, що обумовлюють стійкість до різних патотипів і видів нематод та вірусів й формують декілька кластерів [14-17]. Було також визначено ряд молекулярних STS, SCAR та SSR маркерів, алельний стан яких вказує у більшості випадків на повну, а у декількох

Матеріали і методи

Проаналізовано 78 сортів картоплі української та світової селекції із колекцій Устимівської дослідної станції рослинництва Інституту рослинництва ім. В.Я. Юр'єва НААН України та Інституту картоплярства НААН України. ДНК виділяли із бульб картоплі (наважка біомаси – 60–140 мг) за допомогою наборів для виділення Diatom™ DNA Prep 100 (торговий представник в Україні – фірма NEOGENE®) за стандартним протоколом. Для ідентифікації алельного стану гена *H1* використовували умовно-кодінан-

Результати та обговорення

Із досліджених 48 сортів картоплі української селекції сорти Воля, Дніпрянка, Доброчин, Забава, Загадка, Ластівка, Левада, Легенда, Ліщина, Мандрівниця, Мелодія, Молодіжна, Обрій, Партнер, Селянська, Слов'янка, Тетерів, Фазан, Фантазія, Чернігівська рання відомі за польовою стійкістю до золотистої нематоди [30, 31], статус сортів Кіммерія, Мавка, Оберіг, Овація, Повінь, Пролісок, Случ, Фазан, Щедрик нами знайдено не було. Разом з тим у 35-ти сортах картоплі а саме у названих а також у сортів Вернісаж, Билина, Луговська, Подолянка, Поляна, Червона рута був ідентифікований алель «+» маркера *TG689*, асоційований із стійкістю за *H1*-типом, що складає приблизно 74 % із усіх проаналізованих українських сортів.

Серед 30-ти досліджених зарубіжних сортів 20 є стійкими до нематоди згідно польових досліджень, а саме сорти Agave, Amargosa, Arrow, Asterix, Bella Rosa, Delikat, Finka, Karatop, Karlana, Kuras, Kuroda, Latona, Marfona, Minevra, Molli, Picasso, Riviera, Saturna, Solara і Melody [30], даних по стійкості сортів Laura, Miranda, Roko, Білоруська 3 Roxana нами знайдено не було. У зразках 27-ми із 30-ти зарубіжних сортів, а саме у названих і в сортах Romano, Satina та Невська був знайдений алель

– на помірну стійкість до золотистої картопляної нематоди за *H1*-типом [24-29]. Нами був обраний умовно-кодінантний SCAR маркер *TG689*. Інформація по точній генетичній відстані від нього до локусу *H1* нами знайдена не була, однак цей маркер валідований шляхом аналізу більше ніж 100 сортів російської і світової селекції [27].

Метою роботи було дослідження алельного стану молекулярного маркера *TG689* гена стійкості *H1* до золотистої картопляної цистоутворюючої нематоди серед сортів картоплі української та світової селекції.

тний молекулярний маркер *TG689* [27]. Умови ПЛР наступні: попередній віджиг 6 хв. при 94°C, потім 35 циклів (20 с при 94°C, 20 с при 55°C і 30 с при 72°C) й фінальна елонгація при 72°C протягом 5 хв. [27]. ПЛР проводили за допомогою наборів GenPak® PCR Core (торговий представник в Україні – фірма NEOGENE®) відповідно до рекомендацій. Результати ПЛР візуалізували шляхом електрофорезу у 2–2,5 % агарозному гелі із 1xTBE буфером та фарбуванням бромистим етидієм.

«+»маркера *TG689*, що складає приблизно 90 %.

Отримані нами дані свідчать про наявність стійкості до патотипів *Ro1* й *Ro4* золотистої нематоди за *H1*-типом серед сортів картоплі української селекції, що може бути поясненим участю при їх створенні зарубіжних сортів, у які було інтродуковано цей ген [10] і наявністю цілеспрямованого відбору на стійкість при селекції картоплі на Україні.

Жоден сорт української селекції із статусом маркера *TG689* «-» не відомий як стійкий до патотипу *Ro1* золотистої нематоди, що, однак, не виключає вірогідності стійкості у них до інших патотипів, або ж часткової стійкості. Сорти Екзотик і Петровська, для яких був визначений алель «-» маркера *TG689*, не є обов'язково чутливими до золотистої нематоди, оскільки стійкість до неї може бути обумовлена також генами часткової або повної стійкості [11–17].

Що стосується сортів Вернісаж, Билина, Луговська, Подолянка, Поляна, Червона рута, Romano, Satina та Невська, для яких характерна розбіжність між даними за алельним станом молекулярного маркера і польовим статусом сортів картоплі, то те ж саме було відмічене авторами маркера для сортів Башкирський, Даренка, Загадка, Малиновка, Памяти Рогачева і Сонячний:

у них був ідентифікований «+»-алель маркера, проте вони є помірно стійкими до золотистої нематої [27].

Для спростування чи підтвердження отриманих результатів слід проводити більш глибоке й масштабне дослідження сортів картоплі, які вирощуються в Україні, за допомогою молекулярних маркерів генів стійкості до золотистої нематої та інших шкідників, охопивши увесь комплекс розроблених на сьогодні моле-

кулярних маркерів стійкості. Варто також запропонувати впровадження молекулярних маркерів в селекційний процес з метою спрощення й пришвидшення відбору зразків, які несуть цільові алелі відповідних генів. Сорти, у яких був визначений алель маркера *TG689* «+» і які показали польову стійкість до золотистої нематої, варто запропонувати використовувати в селекційному процесі як джерело стійкості за *H1*-типом.

Література

1. Перелік регульованих шкідливих організмів [Електронний ресурс] // Сайт Державної інспекції з карантину рослин м. Києва. – Режим доступу: http://karantin.gov.ua/perelik_shkidlivih_organizmiv.html.
2. Urwin P.E., Green J., Atkinson H.J. Resistance to *Globodera* spp. in transgenic *Solanum tuberosum* cv. *Desiree* that express proteinase inhibitors // *Aspects of Applied Biology (Potato cyst nematode management)*. – 2000. – Vol. 59. – P. 27–32.
3. Philis I. Assessment of potato yield loss caused by the potato cyst nematode, *Globodera rostochiensis* // *Nematol. mediterr.* - 1991. - Vol. 19. - P. 191–194.
4. Greco N. Potato cyst nematodes: *Globodera rostochiensis* and *G. Pallida* // *Nematology Circular No. 149*, Florida Department of Agriculture and Consumer Services, Division of Plant Industry, Gainesville, FL, USA. – 1988. – 557 p.
5. Brodie B.B. Biology and distribution of potato cyst nematodes in North America and their economic impact on potato // *Potato Association of America*. – 2001. – Vol. 78. – P. 445.
6. Trudgill D.L. Yield losses caused by potato cyst nematodes: a review of the current position in Britain and prospects for improvements // *Ann. appl. Biol.* - 1986. - Vol. 108. - P. 181–198.
7. Nicol J.M., Turner S.J., Coyne D.L., den Nijs L., Hockland S., Tahna Maafi Z. Current nematode threats to world agriculture // *Genomics and Molecular Genetics of Plant-Nematode Interactions* / eds. J. Jones et al.: Springer Science+Business Media B.V., 2011. – P. 21–43.
8. Franko J. Potato cyst nematodes; *Globodera* spp. (Technical Information Bulletin 9) // *International Potato Center*: Lima, Peru. – 1986. – 19 p.
9. Evans K. New approaches for potato cyst nematode management // *Nematropica*. – 1993. – Vol. 23. – P. 221–231.
10. Tomczak A., Koropačka K., Smant G., Govers A., Bakker E. Resistant plant responses // In: Berg RH, Taylor CG (eds) *Plant cell monographs*. – Berlin: Springer, 2009. – P. 83–113.
11. Barone A., Ritter E., Schachtschabel U., Debener T., Salamini F., Gebhardt C. Localization by restriction fragment length polymorphism mapping in potato of a major dominant gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* // *Mol. Gen. Genet.* – 1990. – Vol. 224. – P. 177–182.
12. Kreike C.M., de Koning J.R.A., Vinke J.H., van Ooijen J.W., Stiekema W.J. Quantitatively-inherited resistance to *Globodera pallida* is dominated by one major locus in *Solanum spegazzinii* // *Theor. Appl. Genet.* – 1994. – Vol. 88. – P. 764–769.
13. Kreike C.M., Kok-Westeneng A.A., Vinke J.H., Stiekema W.J. Mapping of QTLs involved in nematode resistance, tuber yield and root development in *Solanum* sp. // *Theor. Appl. Genet.* – 1996. – Vol. 92. – P. 463–470.
14. Rouppe van der Voort J., Lindeman W., Folkertsma R., Hutten R., Overmars H., Van Der Vossen E., Jacobsen E., Bakker J. A QTL for broad-spectrum resistance to cyst nematode species (*Globodera* spp.) maps to a resistance to gene cluster in potato // *Theor. Appl. Genet.* – 1998. – Vol. 96. – P. 654–661.
15. Williamson V.M. Plant nematode resistance genes // *Current Opinion in Plant Biology*. – 1999. – Vol. 2. – P. 327–331.
16. Van der Vossen E.A.G., Rouppe van der Voort J.N.A.M., Kanyuka K., Bendahmane A., Sandbrink H., Baulcombe D.C., Bakker J., Stiekema W.J., Klein-Lankhorst R.M. Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode // *Plant J.* – 2000. – Vol. 23. – P. 567–576.
17. Gebhardt Ch., Valkonen J.P.T. Organization of genes controlling disease resistance in the potato genome // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 2001. – Vol. 39 – P. 79–102.
18. Moloney C., Griffin D., Jones P.W., Bryan G.J., McLean K., Bradshaw J.E., Milbourne D. Development of diagnostic markers for use in breeding potatoes resistant to *Globodera pallida* pathotype Pa2/3 using germplasm derived from *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* CPC 2802. *Theor. Appl. Genet.* – 2010. – Vol. 120. – P. 679–689.
19. Janssen R., Bakker J., Gommers F.J. Mendelian proof for a gene-for-gene relationship between virulence of *Globodera rostochiensis* and the H1 resistance gene in *Solanum tuberosum* ssp. *andigena* CPC 1673. // *Rev Nematol.* – 1991. – Vol. 14. – P. 207–211.
20. Kort J., Ross H., Rumpfenhorst H.J., Stone S.R. An international scheme for identifying and classifying pathotypes

- of potato cyst nematodes *Globodera rostochiensis* and *G. pallida*. – 1977. – *Nematologica*. – Vol. 23. – P. 333–339.
21. Rice S.L., Leadbeater B.S.C., Stone A.R. Change in cell structures in roots in resistance potatoes parasitized by potato cyst-nematodes. I. Potatoes with resistance gene H1 derived from *Solanum tuberosum* ssp. *Andigena* // *Physiological Plant Pathology*. – 1985. – Vol. 27. – P. 219–234.
 22. Gebhardt C., Mugniery D., Ritter E., Salamini E., Bonnel E. Identification of RFLP markers closely linked to the H1 gene conferring resistance to *Globodera rostochiensis* in potato // *Theor. Appl. Genet.* – 1993. – Vol. 85. – P. 541–544.
 23. Pineda O., Bonierbale M.W., Plaisted R.L. Identification of RFLP markers linked to the H1 gene conferring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* // *Genome*. – 1993. – Vol. 36. – P. 152–156.
 24. Skupinova S., Vejl P., Sedlak P., Domkarova J. Segregation of DNA markers of potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) resistance against Ro1 pathotype *Globodera rostochiensis* in selected F1 progeny // *Rostlinna Vyroba*. – 2002. – Vol. 48, No. 11. – P. 480–485.
 25. Bakker E., Achenbach U., Bakker J., van Vliet J., Peleman J., Segers B., van der Heijden S., van der Linde P., Graveland R., Hutten R., van Eck H., Coppoolse E., van der Vossen E., Bakker J., Govere A.A High-resolution map of the H1 locus harbouring resistance to the potato cyst nematode *Globodera rostochiensis* // *Theor. Appl. Genet.* – 2004. – Vol. 109. – P. 146–152.
 26. Gebhardt C., Bellin D., Henselewski H., Lehmann W., Schwarzfischer J., Valkonen J.P.T. Marker-assisted combination of major genes for pathogen resistance in potato // *Theor. Appl. Genet.* – 2006. – Vol. 112. – P. 1458–1464.
 27. Biryukova V.A., Zhuravlev A.A., Abrosimova S.B., Kostina L.I., Khromova L.M., Shmyglya I.V., Morozova N.N., Kirsanova S.N. Use of Molecular Markers of Potato Golden Nematode Resistance Genes H1 and GRO1 // *Russian Agricultural Sciences*. – 2008. – Vol. 34, No. 6. – P. 365–368.
 28. Finkers-Tomczak A., Bakker E., de Boer J., van der Vossen E., Achenbach U., Golas T., Suryaningrat S., Smant G., Bakker J., Govere A. Comparative sequence analysis of the potato cyst nematode resistance locus H1 reveals a major lack of co-linearity between three haplotypes in potato (*Solanum tuberosum* ssp.) // *Theor. Appl. Genet.* – 2011. – Vol. 122 (3). – P. 595–608.
 29. Galek R., Rurek M., De Jong W.S., Pietkiewicz G., Augustyniak H., Sawicka-Sienkiewicz E. Application of DNA markers linked to the potato H1 gene conferring resistance to pathotype Ro1 of *Globodera rostochiensis* // *J. Appl. Genetics*. – 2011. – Vol. 52. – P. 407–411.
 30. Осипчук А.А. (укладач) Список сортів картоплі, які занесені до державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, витяг з офіційного видання «Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні» (станом на 01.03.2010) // Інститут картоплярства Національної академії аграрних наук України. – К.: Міністерство аграрної політики України, Державна служба з охорони прав на сорти рослин, 2010. – 8 с.
 31. Гурманчук О.В. Продуктивність нематодостійких та сприйнятливих до *Globodera rostochiensis* сортів картоплі в зоні Полісся України // *Вісник ЖНАЕУ*. – 2010. – №2. – С. 191–196.

KARELOV A.V.^{1,2}, **PYLYPENKO L.A.**¹, **KOZUB N.O.**^{1,2}, **BONDUS R.O.**³, **FILENKO O.L.**⁴, **SOZINOV I.O.**¹, **BLUME YA.B.**², **SOZINOV O.O.**^{1,2}

¹ *Institute of Plant Protection, NAAS*

Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 33, e-mail: hromogen-black@ukr.net

² *State institution «Institute of Food Biotechnology and Genomics, NAS of Ukraine»*

Ukraine, 04123, Kyiv, Osyrovskoho str., 2a, e-mail: iht@i.kiev.ua

³ *Ustymivka Experimental Station of Plant Production, Plant Production Institute nd.a. V.Ya. Yuriev of NAAS*

Ukraine, 39074, Poltava region, Globunskii district, v. Ustymivka, Lenin str., 15, e-mail: udsr@ukr.net

⁴ *The P.E. «Laboratory of novel biotechnologies NEOGENE»*

Ukraine, Svitlytsky str., 30/20-B

POLYMORPHISM OF THE MOLECULAR MARKER *H1* GENE, ASSOCIATED WITH GOLDEN NEMATODE (*GLOBODERA ROSTOCHIENSIS*) RESISTANCE AMONG UKRAINIAN AND WORLD CULTIVARS OF POTATO (*SOLANUM TUBEROSUM* SSP. *TUBEROSUM*)

Aim. The aim of our investigation was determination of allelic condition of resistance gene *H1* against the pathotypes *Ro1* and *Ro4* of golden potato cyst nematode among the Ukrainian and world potato cultivars.

Methods. The allelic condition of the *TG689* marker was determined by PCR with DNA samples isolated from tubers of potato. **Results.** Among 78 potato cultivars analyzed the allele of marker associated with the *H1*-type resistance was found in 74 % of Ukrainian and 90 % foreign ones, although some of those cultivars

proved to be susceptible to the golden potato nematode in the field. **Conclusions.** The obtained data confirm the presence of *H1*-resistance against golden nematode pathotypes *Ro1* and *Ro4* among the Ukrainian potato cultivars.

Key words: *Solanum tuberosum*, *Globodera rostochiensis*, molecular markers.

КОБИЗЄВА Л.Н.

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

Україна, 61060, м. Харків, проспект Московський, 142, e-mail: lubov_kobyzeva@mail.ru

ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЇ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР З ПОКРАЩЕНИМИ ТЕХНОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ НАСІННЯ

Для сортів гороху, квасолі, нуту та сочевиці, які вирощуються на зерно, важлива оцінка кулінарних властивостей насіння, яка включає в себе розварюваність та коефіцієнт варки. Розварюваність насіння бобових культур це сортова

ознака [1–6], тому успіх селекційної роботи в цьому напрямі в значному ступеню визначається наявністю вихідного матеріалу – джерел високої розварюваності.

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень слугували 7041 колекційних зразків зернобобових культур, в т.ч. гороху – 2329, квасолі – 2035, нуту – 1726, сочевиці – 951, колекції яких формуються, вивчаються та зберігаються в Національному центрі генетичних ресурсів рослин України в Інституті рослинництва ім. В.Я. Юр'єва.

Полевий дослідження проводили в науковій сівозміні №1 Інституту рослинництва протя-

гом 1994–2011 рр. Зразки висівали ручними сажалками, схема посіву – 10 x 15 см, облікова площа 1 м². Стандарти розташовували через 20 номерів. Збирали зразки по мірі їх досягання, обмолочували на молотарках МПСУ 500.

Визначення технологічних властивостей насіння зернобобових культур (розварювання та смакові якості) визначали згідно методичних вказівок [7].

Результати та обговорення

Нами проведено аналіз колекційних зразків цих культур за часом варки та коефіцієнтом розварювання насіння. Проаналізовано у трирічному вивченні: гороху 310 зразків, квасолі – 184, нуту – 176, сочевиці – 144. Встановлено, що за часом розварювання всі культури характеризуються значним діапазоном, що свідчить про широкий спектр вихідного матеріалу для відпрацювання в селекційному плані цієї ознаки. Найбільшою мінливістю коефіцієнту розварювання характеризуються колекційні зразки квасолі (V=18,47 %) та гороху (V=18,26 %) (табл. 1).

Нами встановлено, що більшість зразків мали задовільний та добрий час варки насіння: гороху (35,48 %, 39,67 %), квасолі (53,8 %, 33,7 %) та нуту (49,4 %, 42,1 %) відповідно, тоді як у сочевиці вивчені зразки мали добрий (53,5 %) та відмінний (37,5 %) час варки (рис. 1).

Аналіз часу варки в залежності від географічного походження показав, що зразки з добрим та відмінним часом варки були походженням з України та Росії (горох, квасоля, сочевиця), України та Ірану (нут), що свідчить про значний прогрес в селекційній роботі в цих країнах по цій ознаці

Таблиця 1. Діапазон ознак розварюваності насіння зернобобових культур

Культура	Час варки, хв.		Коефіцієнт розварювання	
	min-max	V, %	min-max	V, %
Горох	54-192	19,19	2,00-3,35	18,26
Квасоля	55-188	17,78	1,67-3,07	18,47
Нут	74-212	16,39	1,62-2,99	10,55
Сочевиця	18-73	27,61	2,10-2,80	6,00

Нами встановлено, що більшість зразків мали задовільний та добрий час варки насіння: гороху (35,48 %, 39,67 %), квасолі (53,8 %, 33,7 %) та нуту (49,4 %, 42,1 %) відповідно, тоді як у сочевиці вивчені зразки мали добрий (53,5 %) та відмінний (37,5 %) час варки (рис. 1).

Аналіз часу варки в залежності від гео-

графічного походження показав, що зразки з добрим та відмінним часом варки були походженням з України та Росії (горох, квасоля, сочевиця), України та Ірану (нут), що свідчить про значний прогрес в селекційній роботі в цих країнах по цій ознаці.

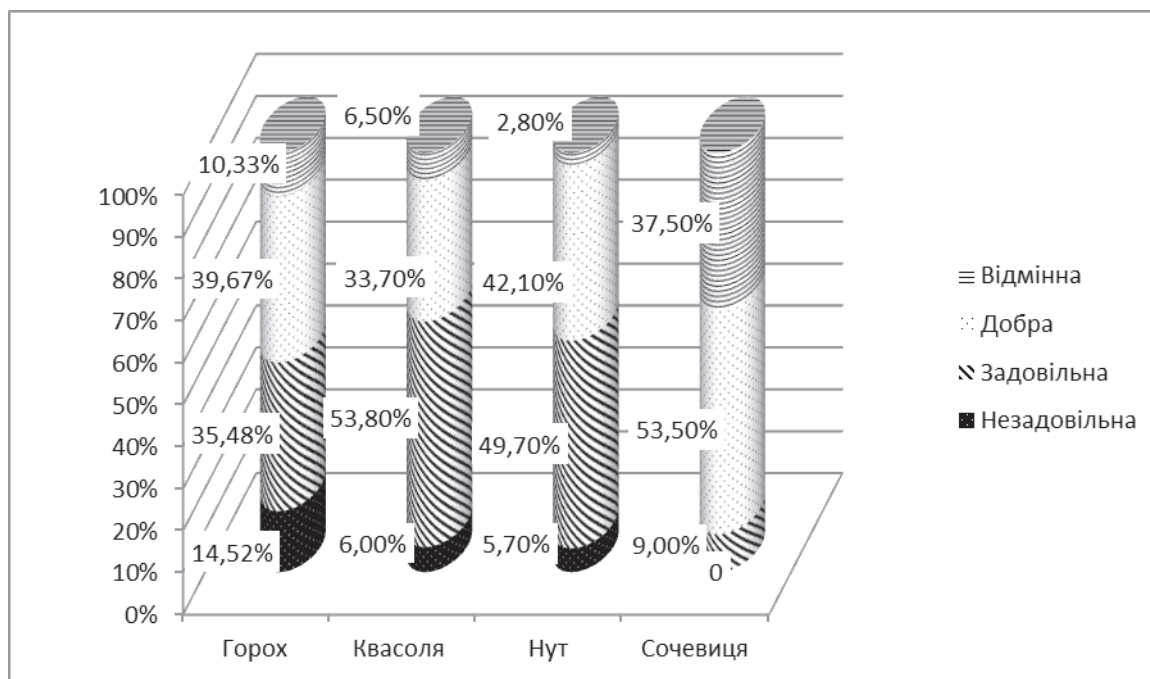


Рис. 1. Час варки насіння колекційних зразків гороху, квасолі, нуту та сочевиці, середнє за три роки

В результаті проведених досліджень виділено цінні джерела зразків гороху, квасолі, нуту та сочевиці, які в своєму генотипі поєднують малий час вирки та високий коефіцієнт розварювання насіння: по гороху виділено 131 зразок з коефіцієнтом розварювання від 1,6 до 5,7 та часом варки від 76 хв. до 106 хв., квасолі – 74

зразка з коефіцієнтом розварювання від 1,62 до 3,7 та часом варки від 91 хв. до 124 хв., нуту – 79 зразків з коефіцієнтом розварювання 1,62–2,99 та часом варки 91–124 хв., сочевиці – 77 зразків, з коефіцієнтом розварювання 2,1–2,8 та часом варки 40–60 хв. (табл. 2).

Таблиця 2. Джерела високої харчової якості насіння (горох, квасоля, нут, сочевиця), 1992–2009 рр.

Номер Національного каталогу, UD	Назва зразка	Країна походження	Коефіцієнт розварювання			Час розварювання, хвилин	
			min–max	X	V, %	min–max	X
Горох $\Sigma=131$			1,60–5,70	2,86	18,26	76–106	<75
0101370	Викторія Ма ндорф-ская – стандарт	Німеччина	2,80–3,00	2,93	3,54	75–96	100
0100666	Люлинецький короткосте – бельний	Україна	2,80–3,20	3,00	4,71	75–108	94
0101729	Харків'янин	Україна	2,80–3,20	3,00	6,67	74–108	93
0102250	Демос	Росія	3,10–3,20	3,15	2,24	72–84	78
0101691	Атлант 2	Росія	3,00–3,20	3,07	3,77	74–96	89
0101770	Ji 1564, Truppicof*	Англія	3,30–3,40	3,35	2,11	48–60	54
0101695	Servo groene erium*	Нідерланди	3,10–3,30	3,20	3,12	62–84	73

Квасоля $\Sigma=74$			1,62–3,07	2,29	18,47	91–124	25–90
0300025	Первомайська – стандарт зерновий	Україна	2,18–2,84	2,44	19,13	74–165	107
0301057	Красноградська кущова*	Україна	2,30–2,98	2,69	17,87	39–124	75
0303441	Буковинка	Україна	2,46–2,50	2,48	1,14	99–104	101
0303258	Перлина	Україна	2,23–2,75	2,44	15,07	68–132	105
0303265	Забавка*	Росія	2,47–3,07	2,78	15,26	28–103	55
0303263	Загадка*	Росія	2,52–2,89	2,74	9,55	51–96	69
0301206	CDC Whistler*	Канада	2,58–2,78	2,72	5,20	25–129	70
0301053	Polish pea*	США	2,60–2,70	2,65	2,67	74–86	80
0300411	Нер 2*	Румунія	2,45–2,78	2,63	8,87	64–104	82
0301814	Белко	Сербія і Чорногорія	2,49–2,62	2,53	3,63	84–100	94
0301519	–	Уругвай	2,50–2,54	2,52	1,12	93–98	95
0303023	Metis Marochino	Чехія	2,42–2,60	2,50	5,09	87–109	98
Нут $\Sigma=79$			1,62–2,99	2,26	10,55	91–124	38–90
0500101	Краснокутський 123** – стандарт	Росія	1,85–2,33	2,10	16,16	120–179	150
0500264	Дніпровсь кий 1	Україна	2,02–2,60	2,32	17,68	85–158	109
0500672	Привозний	Україна	1,41–2,43	2,42	29,80	108–110	109
0500661	NEC 2211*	Іран	2,66–2,75	2,71	2,35	68–80	74
0500542	NEC 2184*	Іран	2,25–2,99	2,64	19,82	38–120	78
0500604	NEC 2231*	Іран	2,62–2,64	2,63	0,54	82–84	83
0500657	NEC 2222*	Іран	2,46–2,76	2,61	8,13	67–104	85
0500984	EC 26420*	Ізраїль	2,43–2,81	2,60	10,33	61–107	86
0501409	NEC 2614	Афганістан	2,44–2,78	2,56	9,39	64–106	91
0501207	LR 28	Сирія	2,49–2,57	2,53	6,8	90–100	95
0500692	Костюжанський 217	Молдова	2,46–2,56	2,51	2,82	91–104	98
Сочевиця $\Sigma=77$			2,1–2,8	2,46	6,00	40–60	<40
0600453	Красноградська 100	Україна	2,7–2,7	2,7	0,7	22–24	24
0600434	–	Україна	2,6–2,9	2,8	6,19	12–30	18
0600531	Розовая	Росія	2,6–2,7	2,65	2,67	24–30	27
0600127	Петровская зелено-зерная	Росія	2,4–2,9	2,65	13,34	12–43	29
0600361	ILL 6002	Сирія	2,8–2,8	2,8	1,0	14–20	18
0600519	Озима Рузова	Чехія	2,7–2,8	2,75	2,57	18–24	21

Примітки: * – розварюваність відмінна; ** – розварюваність задовільна.

Висновки

Встановлено, що найбільшою мінливістю коефіцієнту розварювання характеризуються колекційні зразки квасолі ($V=18,47\%$) та гороху ($V=18,26\%$). Більшість зразків мали задовільний та добрий час варки насіння: гороху (35,48 %, 39,67 %), квасолі (53,8 %, 33,7 %) та нуту (49,4 %, 42,1 %) відповідно, у сочевиці вивчені зразки

мали добрий (53,5 %) та відмінний (37,5 %) час варки.

Виділено цінні джерела зразків гороху, квасолі, нуту та сочевиці, які в своєму генотипі поєднують малий час варки та високий коефіцієнт розварювання насіння.

Література

1. Samacho L.H. Expanding the genetic potential of the soybean // J. Amer. Oil Chem. Soc. – 1981. – V. 58, No 3. – P. 125–127.
2. Буданова В.И., Колотилов В.В., Колотилова А.С. Содержание белка и разваримость семян у коллекцион-

ных образцов фасоли // Исходный материал, селекция и систематика зерновых бобовых культур: сб. научн. тр. по прикл. бот., ген. и сел. – Л., 1985. – Т. 91. – С. 91–95.

3. Фасоль (оценка образцов на разваримость и другие хозяйственно ценные признаки): каталог мировой коллекции ВИР; сост.: В.В. Колотилов, Т.В. Буравцева, А.С. Колотилова [и др.]. – Л., 1991. – Вып. 606. – 20 с.
4. Пророшнев Р.К., Белехова А.К., Чмелева З.В. Технологические свойства гороха в условиях северо-запада Нечерноземной зоны РСФСР // Исходный материал, селекция и систематика зерновых бобовых культур: сб. научн. тр. по прикл. бот., ген. и сел. – Л., 1985. – Т. 91. – С. 96–100.
5. Комамов В.И. Технологическая оценка зерна гороха, чечевицы, фасоли: методические указания. – СПб.: ВИР, 1992. – 18 с.
6. Порешникова Р.К., Буравцева Т.В. Оценка образцов фасоли для селекции на разваримость // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. – Л., 1997. – Т. 152. – С.106–108.
7. Технологическая оценка зерна гороха, чечевицы, фасоли: метод. Указания; под. ред. В.И. Комаровой и Р.К. Прорешневой. – С.-Пб., 1992. – 17 с.

KOBYZEVA L.N.

Plant Production Institute n.a. V.Ya. Yuriev of NAAS

Ukraine, 61060, Kharkiv, Moskovskiy Avenue, 142, e-mail: lubov_kobzeva@mail.ru

THE SOURCE MATERIAL FOR BREEDING OF LEGUMINOUS PLANTS WITH IMPROVED TECHNOLOGICAL CHARACTERISTICS OF SEEDS

Aims. The article introduces results of many years studying (1994–2009 yy.) of collection samples of pea, bean, chick-pea and lentil of the National centre of studying genetic plant resources of Ukraine by technological indices of seeds – time of boiling and overcooking coefficient. **Methods.** The determination of technological characteristics of seeds of leguminous plants (overcooking and taste qualities) have been determined by commonly accepted methodology (1992 y.). **Results.** It has been determined that as for the time of boiling, all the studied crops are characterized by considerable range, that confirms the wide range of input material for working-off in the selective plan of this characteristic. Depending on crops, the overcooking coefficient was changing from 1,6 till 5,7; depending on weather conditions it was not stable (V from 6 % till 18,47 %). The samples of pea have been defined as the highest overcooking coefficient. **Conclusions.** The collection samples of bean (V=18,47 %) and pea (V=18,26 %) are characterized by the biggest changeability of the overcooking coefficient. Most of samples has had satisfactory and good time of boiling: pea (35,48 %, 39,67 %), bean (53,8 %, 33,7 %), and chick-pea (49,4 %, 42,1 %) accordingly, in lentil the studied samples have had good (53,5 %) and excellent (37,5 %) time of boiling.

Key words: collection samples of pea, bean, chick-pea and lentil, sources, overcooking coefficient.

КОВТУН С.І., ЩЕРБАК О.В., ТРОЦЬКИЙ П.А., ГАЛИЦЬКА Т.В., ЗЮЗІОН А.Б.

Інститут розведення і генетики тварин НААН

Україна, 08321, Київська обл., Бориспільський р-н., с. Чубинське, вул. Погребняка, 1,

e-mail: ov19792006@yandex.ru

ЗАСТОСУВАННЯМ НАНОМАТЕРІАЛІВ У СИСТЕМІ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН УКРАЇНИ

Науково-технічний прогрес початку ХХІ сторіччя відзначається зростанням інтересу до технологій, що базуються на принципах самоорганізації. Такі технології отримали назву «нанотехнології». Синтетичні наночастки, набувають широкого застосування в різних галузях виробництва, а також у біології та медицині. Зокрема, наночастки високодисперсного кремнезему (ВДК) не перевищують 100 нм, що дозволило широко використовувати цей компонент у різ-

них лікарських препаратах [1–3]. Завдяки фізико-хімічним властивостям поверхні ВДК можливе його використання як матриці для синтезу наноматеріалів (НМ), які володіють високою біологічною активністю.

Наразі потребують вирішення питання розробки нових кріосередовищ, які містять наноматеріали для збереження гамет та ембріонів сільськогосподарських тварин. Оскільки згідно «Програми збереження генофонду основних ви-

дів сільськогосподарських тварин в Україні на період до 2015 року» генофондові стада є виробниками продукції у вигляді гамет, ембріонів та соматичних клітин, необхідно регульовано використовувати таку продукцію на різних етапах комплексу заходів збереження генофонду через функціонування Банку генетичних ресурсів тварин Інституту розведення і генетики тварин НААН. Ефективність роботи його залежить від розподілу генетичного матеріалу у віртуальні генофондові кріостада, які мають кріоконсервованій генетичний матеріал відомого походження та у кількості, яка є достатньою для відтворення генофондового стада тварин. Ці підходи є складовою виконання у найближчі роки завдань цілісної наукової методології, державної програми дій щодо збереження біорізноманіття тваринництва та міжнародних документів, підписаних Україною («Конвенція про біологічну різноманітність» (Ріо-де-Жанейро, 1992), «Інтерлакенська декларація та глобальний план дій щодо збереження, сталого використання і розвитку генетичних ресурсів тварин у світі для продовольства і сільського господарства» (Швейцарія, ФАО, 2007), Нагойського протоколу про доступ до генетичних ресурсів та справедливий і рівноправний розподіл вигоди від їх використання (Японія, 2010)).

Необхідна також розробка технологічного маршруту виготовлення наноматеріалів та подальшого вивчення їх біологічної активності для підвищення життєздатності репродуктивних

Матеріали і методи

Об'єктом експериментальних досліджень були ооцит-кумулюсні комплекси свинок порід велика біла та ландрас. Сперматозоїди кнурів та яйцеклітини свиней одержували на СВАО «Агрокомбінат «Калита» (Броварський р-н). Ооцити отримували шляхом надрізу лезом видимих антральних фолікулів, вимивали середовищем Дюльбекко та оцінювали за морфологічними ознаками. Для заморожування використовували ооцити свинок із гомогенною тонкозернистою ооплазмою, неушкодженою прозорою оболонкою, щільним або частково розпушеним кумулюсом. Перед заморожуванням гамети обробляли 10 хв. еквілібраційним розчином (10 % гліцерин +20 % пропандіол) потім переносили у вітрифікаційний розчин (25 % гліцерин +25 % пропандіол).

Після розморожування гамет свинок виведення кріопротекторів проводили шляхом перенесення їх на 10 хв. у розчин 1 М сахарози.

клітин у технології кріоконсервації не тільки сперми плідників, але й гамет самиць. Стрімкий розвиток нанотехнологій та зростання обсягів виробництва наноматеріалів визначають необхідність розробки нової технології довгострокового зберігання генетичних ресурсів тварин на основі використання наноматеріалів [4–6].

Такі дослідження є перспективними та були представлені як складова плану дій на засіданні робочої групи Європейського регіонального центру генетичних ресурсів тварин при ФАО, членом якого є Україна, в рамках функціонування Банку генетичних ресурсів тварин Інституту розведення і генетики тварин НААН із використанням міжнародної програми управління кріобанками CryoWEB. Технологія буде застосована в рамках виконання Національного проекту Міністерства аграрної політики та продовольства України «Відроджене скотарство» в частині збільшення поголів'я вітчизняних порід і забезпечить економічний ефект у частині зниження вартості кріоконсервованих генетичних ресурсів і підвищення рівня одержання потомства.

Метою досліджень було вивчити вплив 0,001 %-ї концентрації ВДК 200°C (поверхня ВДК перед експериментом була оброблена протягом двох годин температурою 200°C) на життєздатність та подальший розвиток поза організмом ембріонів, отриманих із деконсервованих гамет свиней.

Потім клітини тричі відмивали середовищем М-199, оцінювали за морфологічними ознаками і переносили в середовище для культивування. Ооцит-кумулюсні комплекси свинок культивували в чотирьохлункових планшетах упродовж 44 год. за температури +38,5°C, 5 % CO₂ у повітрі, в краплях середовища 199 з 10 % попередньо інактивованою еструсною сироваткою корів, 2 мМ натрію пірувату, 2,92 мМ кальцію лактату, 40 мкг/мл гентаміцину. Деконсервовані гамети свинок після культивування поза організмом підлягали заплідненню *in vitro*. Для запліднення *in vitro* яйцеклітин свинок використовували нативну сперму кнурів. Капацитацію сперматозоїдів здійснювали гепарином (100 од/мл) за методикою Parrish J.J. et al. [7]. Після 12–18 год. спільного інкубування яйцеклітини і зиготи відмивали від прилиплої сперми і переносили в краплі середовища CDM для подальшого культивування.

Результати та обговорення

Підбір і використання певних добавок при культивуванні гамет в умовах *in vitro* є одним з визначальних чинників, які забезпечують життєздатність і подальший розвиток поза організмом як нативних так і деконсервованих гамет. Нами проведені експериментальні дослідження з вивчення впливу добавки ВДК 200°C в 0,001 %-й концентрації на життєздатність і подальший розвиток поза організмом ембріонів отриманих з деконсервованих гамет. При цьому НМ додавали до деконсервованих та запліднених яйцеклітин (зигот) свиней (варіант досліду – Д). Як контроль були зиготи, які культивувалися *in vitro* без додавання НМ (варіант досліду – К).

Попередніми дослідженнями було встановлено, що рівень формування ембріонів свиней із додаванням до середовища для культивування зародків *in vitro* 0,001 % ВДК 200 °С є досить високим і цей рівень становив 40,2 %. Показник дроблення ембріонів *in vitro* був на 3,8 % нижче у контрольній групі, порівняно із середовищем

яке містило 0,001 % ВДК 200°C [9]. Також нами отримано вищий відсоток дозрілих *in vitro* до метафази II ооцитів свиней, які культивувалися із 0,01 % ВДК 200°C (69,6 % проти 56,5 % без додавання НМ) [10, 11].

Нами проведено дослідження із удосконалення елементів технології довгострокового зберігання генетичних ресурсів тварин на основі використання наноматеріалів для удосконалення ембріотехнологічних засобів у тваринництві. Встановлено, що рівень дроблення *in vitro* ембріонів свиней із деконсервованих гамет за використання 0,001 %-ї концентрації НМ у середовищі їх культивування був вищим на 11,1 %, порівняно з контролем (табл. 1).

Встановлено, що відсоток формування ембріонів на більш пізніх стадіях розвитку *in vitro* (ранні морули – 9 – 16-клітинні ембріони) в дослідній групі з додаванням 0,001 %-ї концентрації НМ у середовище для культивування ембріонів.

Таблиця 1. Вплив ВДК 200 °С на ефективність розвитку ембріонів свиней *in vitro*, отриманих із деконсервованих яйцеклітин свинок

Варіанти досліду	Кількість клітин, що підлягали заплідненню <i>in vitro</i>	Кількість ембріонів на стадіях:							
		2 клітин		3–4 клітин		5–8 клітин		9–16 клітин	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Д	155	57	36,8 ^a ±3,9	46	29,7 ^a ±3,7	28	18,1 ^c ±3,1	13	8,4 ^d ±2,2
К	148	38	25,7 ^b ±3,6	27	18,2 ^b ±3,2	17	11,5 ^c ±2,6	7	4,7 ^d ±1,7

Примітка. a : b – P < 0,05, критерій χ^2 .

Встановлено, що 0,001 % концентрація ВДК 200°C позитивно впливає на подальший розвиток запліднених *in vitro* деконсервованих і дозрілих поза організмом яйцеклітин (рис. 1). Досліджуючи динаміку дроблення ембріонів свиней (кількість ембріонів на відповідній стадії розвитку від загальної кількості ембріонів – 95 штук) нами встановлено, що через 24 год. культивування рівень дроблення ембріонів був вищий у дослідній групі на 20 %, порівняно із контрольною. Подальше культивування ембріонів до 48 год. призводить до зниження динаміки дроблення в контрольній групі також на 20 %, порівняно з дослідною. На третю добу культивування цих ембріонів рівень дроблення зменшився більш як у два рази в обох групах і стано-

вив у середньому 23,8 %. При збільшенні терміну культивування ембріонів до 96 год. спостерігали зменшення рівня дроблення в дослідній та контрольній групах більш ніж у п'ять разів.

Крім динаміки дроблення зародків після запліднення *in vitro* не меншу інформативність має індекс дроблення ембріонів (кількість ембріонів на відповідній стадії розвитку від загальної кількості ембріонів у кожній групі). Встановлено, що індекс дроблення 3–4-клітинних ембріонів був вищий у дослідній групі на 9,6 %, порівняно з контролем (рис. 2). При подальшому дробленні ембріонів (5–8-клітинні) спостерігали зниження індексу дроблення у дослідній групі на 2,1 %, порівняно із контролем.

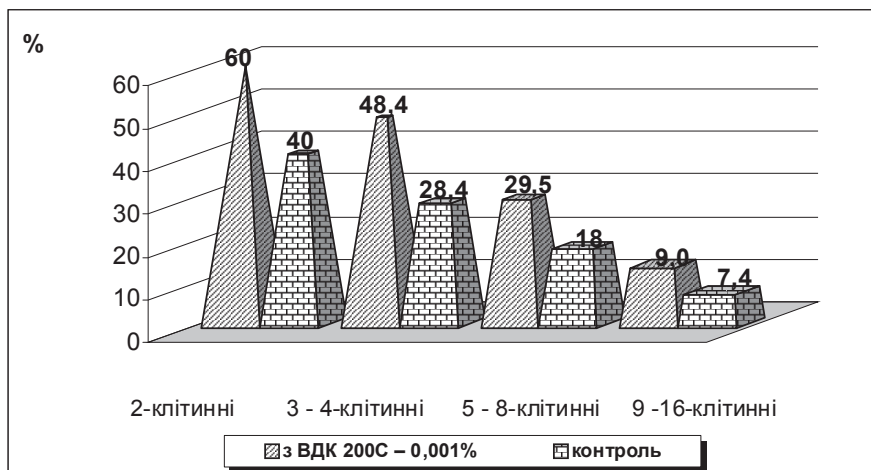


Рис. 1. Динаміка дроблення ембріонів свиней, отриманих *in vitro* з деконсервованих і дозрілих поза організмом яйцеклітин

При подальшому культивуванні було відмічено збільшення відповідного індексу в дослідній групі (9–16-клітинні ембріони) на 5,2 %, порівняно із контролем.

Отже, встановлено позитивний вплив ВДК 200°C в концентрації 0,001 % на формування ембріонів із деконсервованих ооцитів та подальший їх розвиток в умовах *in vitro* і отримано

вірогідно більшу кількість ембріонів (9 %), які розвинулись до стадії морули. Встановлена перевага використання ВДК 200 °С в 0,001 %-вій концентрації при формуванні ембріонів *in vitro* за таких показників як кількість отриманих зародків із деконсервованих і дозрілих яйцеклітин свинок.

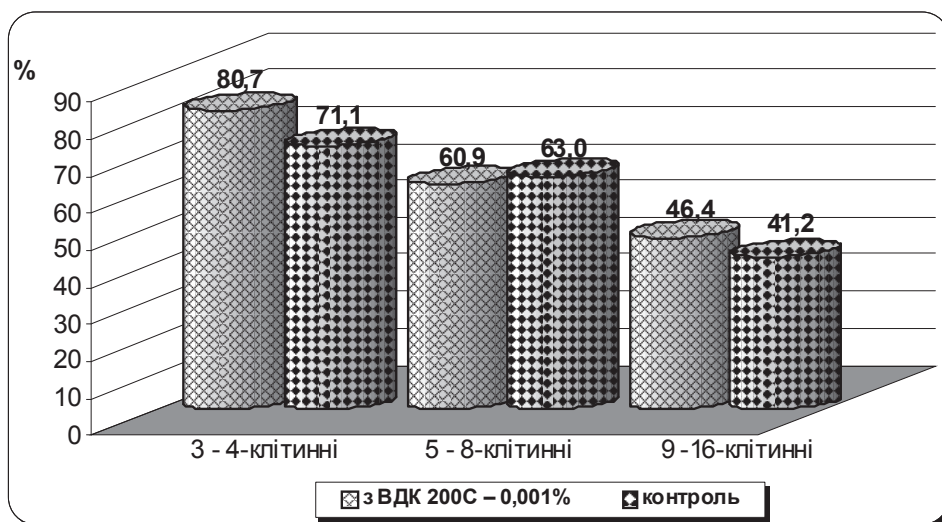


Рис. 2. Індекс дроблення ембріонів свиней, отриманих *in vitro* з деконсервованих і дозрілих поза організмом яйцеклітин свинок

Висновки

Доведено, що використання ВДК 200 °С в 0,001 %-й концентрації у складі середовища для *in vitro* культивування призводить до збільшення на 11,1 % кількості отриманих зародків свиней з деконсервованих ооцитів та забезпечує більш ефективне формування і розвиток ембріонів поза організмом.

Отримані результати вказують на доцільність більш глибокого з'ясування біологічних

процесів, враховуючи склад культуральних середовищ при формуванні ембріонів *in vitro* з деконсервованих яйцеклітин. Ця розробка є складовою реалізації завдань «Програми збереження генофонду основних видів сільськогосподарських тварин в Україні на період до 2015 року» та Національного проекту Міністерства аграрної політики та продовольства України «Відроджене скотарство».

Робота виконана за фінансової підтримки Державного агентства з питань науки, інновацій та інформатизації України в рамках проекту «Розроблення нової технології довгострокового зберігання генетичних ресурсів тварин на основі використання наноматеріалів» (договір № ДЗ/496-2011 від 29.09.2011 р.).

Література

1. Борисевич В.Б., Каплуненко В.Г., Косінов М.В. та ін. Наноматеріали в біології. Основи нановетеринарії. – К.: ВД «Авіцена», 2010. – 416 с.
2. Буркат В.П., Ковтун С.І. Сучасна біотехнологія у тваринництві // Біотехнологія. – 2008. – № 3. – С. 7–12.
3. Буркат В.П., Ковтун С.І., Галаган Н.П. Нанобиотехнологические методы для сохранения генофонда // Материалы международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии воспроизводства животных». – Дубровицы – Быково, 2007. – С. 450–452.
4. Ковтун С.І., Щербак О.В., Зюзюн А.Б. та ін. Використання наноматеріалів для ефективного формування ембріонів свиней *in vitro* // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр. – 2012. – Т. 4. – С. 513–518.
5. Галаган Н.П. Наноматеріали на основі високодисперсного кремнезема і біомолекул в средах с репродуктивними клітками // Материалы II Всеросс. научной конференции с международным участием «Сорбенты как фактор качества жизни и здоровья». – Москва–Белгород, 2006. – С. 55–59.
6. Галаган Н.П., Власенко В.В., Настасієнко Н.С., Чуйко О.О. Дослідження впливу високодисперсного кремнезему, модифікованого поліолами, на життєздатність репродуктивних клітин методом фотон-кореляційної спектроскопії // Біофізичний вісник. Вісн. Харк. ун-ту. – 2005. – № 665, Вип. 1 (15). – С. 94–98.
7. Capacitation of bovine spermatozoa by oviduct fluid /Parrish J.J., Sushko-Parrish J.L., Handron R.R. et al. // Biol.Reprod. – 1989. – Vol.40. – P.1020–1025.
8. Ushijima M., Okuda M., Nakajama T. et al. Relationship between the cell number and Quality of Day-8 bovine blastocysts // Proc. 3 rd East Jpn. Soc. Anim. Embr. Trans. – 1988. – №9. – P. 37–38.
9. Ковтун С.І., Щербак О.В., Зюзюн А.Б. та ін. Використання наноматеріалів для ефективного формування ембріонів свиней *in vitro* // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр. – 2012. – Т. 4. – С. 513–518.
10. Ковтун С.І., Куновський Ю.В., Галаган Н.П. Вплив наноматеріалів на заплідненість яйцеклітин свиней // Тваринництво України. – 2007.– №2. – С. 72–74.
11. Galagan N.P., Siora I.V., Kovtun S.I., Scherbak O.V. Nanocomposites in biotechnology for prolonged preservation of gene pool (synthesis and application) // IX Polish – Ukrainian Symposium «Theoretical and experimental studies of interfacial phenomena and their technological applications». – Lublin. – P. 27.

KOVTUN S.I., SCHERBAK O.V., TROTSKY P.A., GALITSKA T.V., ZYUZYUN A.B.

Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS

Ukraine, 08321, Kyiv Region, Boryspil District, v. Chubinsky, Pogrebnjaka str., 1,

e-mail: ov19792006@yandex.ru

USE OF NANOMATERIALS IN FARM ANIMALS OF UKRAINE BIODEVERSITY CONSERVATION SYSTEM

Aims. Examine the impact of 0.001 %-concentrated ultrafine silica (UFS 200°C) on the viability and further development outside the organism of embryos, which were obtained from unfrozen gametes. **Methods.** Biotechnological, cryobiological, morphological, and methods of data statistical processing were used at research holding. **Results.** It was found that the use of UFS 200°C of 0.001 % concentration as the component for *in vitro* cultivation medium causes an increase of obtained pig embryos number at 11.1 %, when compare with fertilization of pig gametes without nanomaterial use. Dynamics of formation of *in vitro* pig embryos and fragmentation index of embryos, which were obtained out of unfrozen oocytes after adding of nanomaterials were specified. **Conclusions.** It is proved that UFS 200°C of 0.001 % concentration in the medium for *in vitro* cultivation of pig embryos, got out of unfrozen oocytes provides more efficient formation and development of embryos outside the organism. These approaches are part of the execution in the coming years of tasks of integrated scientific methodology, the state program of actions on animal-breeding biodiversity conservation and international documents, signed by Ukraine.

Key words: nanomaterials, cryoconservation, vitrifying solution, maturation *in vitro*, embryos.

КОЗЛОВСКАЯ З.А., ТАРАНОВ А.А., ЛЁГКАЯ Л.В.

РУП «Институт плодоводства Беларусь»

Беларусь, 223013, аг. Самохваловичи, Минский р-н, ул. Ковалева, 2, e-mail: zoya-kozlovskaya@tut.by

ОЦЕНКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОФОНДА ПЛОДОВЫХ, ЯГОДНЫХ, ОРЕХОПЛОДНЫХ КУЛЬТУР И ВИНОГРАДА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ

Для создания новых энергосберегающих сортов, рационального использования их в садоводстве генетические ресурсы плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда являются ценным стратегическим потенциалом. Во всем мире сохранению генетических растений придается большое внимание. Так, в Европе формирование Многосторонней системы сохранения геноресурсов (MLS) тесно увязано с проектом AEGIS, реализуемым в рамках Европейской кооперативной программы генетических ресурсов растений (ЕСPGR), участником которой стала и Республика Беларусь в 2010 г. Это стало возможным благодаря систематической научно-исследовательской работе в области сбора, сохранения и использования геноресурсов плодовых и ягодных культур на протяжении многих десятилетий. За период более 85 лет в Институте плодоводства изучены тысячи образцов плодовых и ягодных культур, часть из них использована и используется в качестве исходного материала в селекции, являющегося основой создания современного сортимента данных культур в Республике Беларусь, выведено более 200 сортов. Некоторые из них нашли достойное место в садах сопредельных стран.

Меняющиеся условия окружающей среды

Материалы и методы

Исследования проводились в РУП «Институт плодоводства» в опытных садовых насаждениях. Объектами исследований являлись базовые коллекции плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда, которые в настоящее время насчитывают 4795 генотипов: яблоня – 1353, груша – 745, слива – 328, вишня – 262, черешня – 271, абрикос – 126, персик – 19, орех грецкий – 88, виноград – 303, земляника садовая – 120, смородина черная – 189, смородина красная – 73, смородина золотистая – 11, крыжовник – 315, малина – 61, ежевика – 15, хеномелес – 18, актинидия – 57, барбарис – 2, боярышник – 38, бузина – 35, жимолость – 105, ирга – 3, калина – 36, кизил – 50, лимонник китайский – 2, лох – 6, облепиха – 50, рябина

и возникновение ряда биотических и абиотических стрессовых факторов, обусловленные хозяйственной деятельностью человека, оказывают существенное влияние на генотип и метаболизм сортов, что приводит к их «старению» и перерождению, а также непосредственной гибели многолетних плодовых и ягодных культур. Необходимость сохранения существующего генотипа, являющегося важнейшим источником адаптивно значимых и хозяйственно ценных признаков для селекции, очевидна и актуальна. Наиболее значима для практической селекции работа по формированию признаков коллекций. Переход на международные принципы формирования различных типов коллекций конкретизирует объекты селекционных программ по наиболее актуальным направлениям, тем самым сокращая затраты на первоначальном этапе селекционного процесса в 2–3 раза и позволяет экономить в эквиваленте 10–20 тыс. дол. США затрат на создание сорта [1].

Целью данных исследований является формирование коллекций генетических ресурсов плодовых и ягодных культур различных категорий и типов, обеспечение их рационального использования для решения селекционных задач.

садовая – 30, арония – 11, черемуха – 1, шиповник – 11, шелковица – 1.

Описание сортов по морфологическим признакам (растение, побег, почка, лист, плод) проведено согласно «Методике проведения испытаний на отличимость, однородность и стабильность» (UPOV, 1995, 1999, 2008) [2, 3, 4]. Характеристика биологических признаков (фенологические наблюдения, зимостойкость, степень плодоношения, средняя масса плода, устойчивость к болезням) плодовых, ягодных и орехоплодных культур дана в соответствии с «Программой и методикой сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» [5], винограда – по методике М.А. Лазаревского [6].

Результаты

Постоянное пополнение живых коллекций, естественный процесс выбытия части образцов в связи со слабой приспособленностью к климатическим условиям Беларуси и недостаточной устойчивостью к болезням, приводит к колебанию численности образцов в коллекции. Тем не менее, коллекции постоянно расширяются за счет интенсивного обмена новыми образцами между институтом и зарубежными селекционными учреждениями, а также благодаря экспедиционным обследованиям садов Беларуси. Международное сотрудничество в области обмена геноресурсами осуществляется по более 80 договорам и соглашениям с различными НИУ и частными лицами.

В процессе реализации Государственной программы «Создание национального банка генетических ресурсов растений для выведения новых сортов и гибридов сельскохозяйственных культур, сохранения и обогащения культурной и природной флоры Беларуси» (2006–2012 гг.) существенно пополнили генофонд садовых растений, на 1500 генотипов. Успешным был 2012 год, когда в результате экспедиционного обследования и международного обмена был получен 301 новый образец. Имеющимся генофондом интересуются различные учреждения Европы, Азии и Африки, в зарубежные научно-исследовательские учреждения ЮАР, Румынии, Бельгии, России, Украины, Латвии, Литвы для изучения переданы 114 сортов плодовых и ягодных культур.

Формирование целевых признаков коллекций генотипов проводили в соответствии с основными направлениями селекционной работы. Ключевыми параметрами, определяющими ценность селекционных источников, являлись устойчивость к заболеваниям и качество плодов. Важнейшим признаком, на который ведется селекция яблони во всем мире, является устойчивость к парше. При создании гибридных популяций со стабильной резистентностью к патогену *Venturia inaequalis*, определяющую роль играет разнообразие исходного материала для селекции, позволяющего расширить генетическую основу устойчивости к заболеванию. Из всего многообразия коллекционного материала яблони было сформировано несколько групп исходных форм с различным генетическим происхождением и характером устойчивости к парше:

– производные *M. × domestica* с высокой полигенной устойчивостью: 94–23/24 ([68–10/60 × Undiene] × Алесь), 96–32/9 (72–11/47 × Sampion), 97–5/39 (Елена × Красное раннее), 97–

27/3 (72–11/89 × Салгирское), 99–32/56 (Wealthy × Haralson);

– производные *M. × floribunda* с моногенной устойчивостью (ген *Rvi6*): Нававіта, Сакавіта, Дыямент, Белана, 99–9/23 (Белорусское малиновое × 86–54/131), 2000–45/20 (Белорусское малиновое × 86–54/131,133,135), 85–26/33 (Noris × Prima), 85–14/86, 86–14/95 (Белорусское малиновое × ВМ 41497), 86–56/78 (Орловская гирлянда × ВМ41497), 86–43/122 (Антей × ВМ41497), 94–18/37 (72–9/160 × Liberty);

– производные *M. × domestica* с моногенной устойчивостью (ген *Rvi17*): Чаравница, 55/58, 55/76 (Чаравница св.оп.), 2/8, 2/9, 2/14 (Чулановка св.оп.);

– производные *M. × prunifolia* с полигенной устойчивостью: Dolgo, Избранница, Народное, Пепинка золотистая, 2000–41/70, 2000–41/76, 2000–41/85 ([Милена × 85–15/115] св.оп.);

– производные *M. × zumi* различных генераций с высокой полигенной устойчивостью: F₂ – S-1-27-45, F₃ – H1255, F₄ – 2000-46/5, 2000-46/17 (H1255 × Empire);

– производные *M. × sieboldii* различных генераций с высокой полигенной устойчивостью: F₁ – 19/2, F₂ – 25/175, 99-4/56 (19/2 × Чулановка), F₃ – 95-19/11, 97-4/56, 97-4/64, 97-4/67 (25/177 × Вербнае), 2000-46/61 (21/175 × Empire);

– другие дикие виды и формы с высокой полевой устойчивостью: 5/94 (F₁ *M. × sargentii*), *M. × sieversii* f. *niedzwetzkyana*, *M. × cerasifera*, *M. × robusta*, *M. × baccata*, *M. × sachalinensis*, *M. × kansuensis*, *M. × mandshurica*, *M. × purpurea*.

Таким образом, 50 генотипов – производных 15 видов яблони выделены в признаковую коллекцию устойчивости к парше, обусловленную как олигогенами, так и полигенами.

Благодаря наличию в РУП «Институт пловодства» обширной базовой коллекции сортов и гибридов груши на основе 11 видов *Pyrus communis* L., *P. ussuriensis* Maks., *P. pyraster* Burgsd., *P. pyrifolia* (Burm.) Nakai., *P. bretschneideri* Rehd., *P. uyematsuana* Makino., *P. salicifolia* Pall., *P. elaeagnifolia* Pall., *P. pashia* Hamilt., *P. calleriana* Decne., *P. regeli* Rehd. проведено выделение источников устойчивости к основным заболеваниям в условиях влажного климата страны - парши и септориоза:

– производные *Pyrus × communis*: 81-14/65 (Виневка × Packham's Triumph), 84–2/75 (Бере лошицкая × Amiral Gervais), 89-34/47 (Масляни-

стая лошицкая × Сентябрьская), Велеса, Память Анзина, Талгарская красавица;

– производные *P. × ussuriensis*: 84–4/62, 84–4/59 (3/4 × Сеянец Яковлева 104), 89–32/18 (Белорусская поздняя × Масляная Ро), 90–38/97 (6/89-100 × Масляная Ро), Августовская роса, Памяти Яковлева, Просто Мария, Вилия, Купала, Чижовская;

– производные *P. × pyrifolia*: 96/40, 86–7/6 [5/5 (98/42 + 3/4)], 81–12/58, 81–12/73 (Honey Dew × Clapp Favorite), Восточная золотистая, Кудесница, Москвичка;

– производные *P. ussuriensis* × *P. pyrifolia*: 86–15/94 (Белорусская поздняя × Дружба).

Признаковую коллекцию устойчивости к клястероспориозу и монилиозу представителей рода *Prunus* L. составили 8 генотипов сливы диплоидной – Несмеяна, Скороплодная, Чернушка, Царская, Слива Вайнберга, Малыш, Краснолиственная, гибрид 84-14/11 и 6 сливы домашней – Стартовая, Окская, Ожибва, Кубанская ранняя, Яичная синяя, гибрид 90-7/44; 11 сортов абрикоса – Артемовский, Брянский ранний, Водолей, Графиня, Лель, Отбор Астахова, Погремок, Сеянец белого абрикоса, Триумф северный, Тульский-2, 10–7/03; коллекция источников устойчивости к коккомикозу и монилиозу вишни и черешни состоит из 12 генотипов вишни (Алмаз, Новелла, 82990, Память Щербакова, Ксения, Рубин, Несвижская, 28/99, 8/18, В-2-180, В-2-230, Ц-8-111) и 6 черешни (Одринка, Бряночка, Уголек, 9/75, 10/97, 15/126).

Сформированы также и коллекции орехоплодных и ряда ягодных культур:

– целевая признаковая коллекция источников устойчивости к марсонии ореха грецкого, включающая 9 генотипов (Ворон, Заря Востока, Родина, Станиславского, Самохвалович-

ский-2, 68-86-С, 67-86-С, 11-86-С, 12-86-С);

– стержневая коллекция смородины черной, включающая 20 образцов (трехгеномных (Рогнеда, Свитязянка, Рита, Альта, Думушка, Памяти Бардова, Чернеча, Аметист, Шаровидная, Болеро), четырехгеномных (Бинар, Голубичка, Деликатес, Добрыня, Вернисаж), пятигеномных сорта (Монисто, Заглядение, Чудное мгновение, Муравушка, Искушение));

– активная рабочая коллекция актинидии, включающая 11 образцов (*Actinidia kolomikta* (мужская форма), Ароматная, Достойная, Однодомная, Сентябрьская, Павловская, ВИР-1, *Actinidia polygama* (женская форма), Киевская гибридная, *Actinidia arguta* (мужская форма), Римма);

– целевая признаковая коллекция источников пригодности к механизированному сбору урожая смородины черной, включающая 9 образцов (Катюша, Наследница, Память Вавилова, Санюта, Церера, Ben Alder, Ben Hour, Ben Nevis, Titania);

– целевая признаковая коллекция источников пригодности к механизированному сбору урожая смородины красной, включающая 4 образца (Рондом, Йонкхер Ван Тетс, Коралловая, Красная Андрейченко);

– активная рабочая коллекция шиповника, включающая – 12 образцов (Бесшипный ВНИВИ, Витаминный ВНИВИ, Воронцовский-1, Воронцовский-2, Крупноплодный ВНИВИ, Победа, Российский-1, Российский-2, Рух, Юбилейный, Can, *Rosa rugosa* Thunb);

– целевая признаковая коллекция источников ремонтантности земляники садовой, насчитывающая 7 образцов (Берегиня, Гирлянда, Елизавета, Любава, Остара, Florin, Selva).

Заключение

Имеющийся в республике генетический потенциал садовых культур позволяет успешно использовать его в селекции, производстве и для межгосударственного обмена. Увеличение генетического разнообразия садовых культур происходит как за счет создания собственных гибридов – генотипов новой генерации со стабильным проявлением во времени важнейших селективируемых признаков – устойчивость к комплексу болезней в сочетании с высоким качеством плодов, так и за счет интродукции.

Анализ имеющегося генофонда создает дополнительные возможности для получения

наиболее объективной картины значимости того или иного сорта, позволяет выявить сорта и формы, которые могут быть использованы в селекции в качестве доноров для создания новых сортов, обеспечивая повышение сохранения агроэкосистем и производства лечебно-диетической продукции. Весомым вкладом в этом направлении является формирование коллекций различных категорий и типов 12 культур, включающих яблоню, грушу, сливу, абрикос, вишню, черешню, орех грецкий, смородину черную и красную, актинидию, шиповник, землянику садовую.

Література

1. Самусь В.А. Формирование и использование коллекций и компьютерных баз данных генетических ресурсов плодовых, ягодных, орехоплодных культур, винограда и их подвоев в Институте плодоводства НАН Беларуси // Методическое обеспечение устойчивого развития современного плодоводства: материалы междунауч. науч. конф., пос. Самохваловичи Минской обл., 6-8 сентября 2006 г. / РУП «Ин-т плодоводства»; редкол.: В.А. Матвеев (гл. ред.) [и др.]. – Самохваловичи, 2006. – Т. 18, ч. 2. – С. 37–46.
2. Guidelines for the Conduct of Tests for Distinctness, Uniformity and Stability: UPOV [Electronic resource]. – Mode of access: http://www.upov.int/test_guidelines/en/list.jsp.
3. Методика проведения испытаний на отличимость, однородность и стабильность 2001 г. Москва – С. 372–387 (документ – 11RTG/0014/1 Malus Mill. Guidelines for the Conduct of Tests for Distinctness, Uniformity and Stability. / UPOV, 1995).
4. Методики проведения испытаний на отличимость, однородность и стабильность RTG/0230/1 (вишня обыкновенная), RTG/0035/2 (черешня) [Электронный ресурс]. – 16.07.1999. – Режим доступа: http://www.gossort.com/mtd_dus.html.
5. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / под общ. ред. Е.Н. Седова и Т.П. Огольцовой. – Орел: Изд-во ВНИИСПК, 1999. – 608 с.
6. Лазаревский М.А. Изучение сортов винограда. – Издательство Ростовского университета, 1963. – 152 с.

KAZLOUSKAYA Z.A., TARANOU A.A., LIONKAYA L.V.

«The Institute for Fruit Growing Belarus»

Belarus, 223013, Samokhvalovitchy, Minsk region, Kovalev str., 2, e-mail: zoya-kozlovskaya@tut.by

EVALUATION AND UTILIZATION OF GENETIC FUND OF FRUIT, NUT CROPS AND GRAPE IN REPUBLIC OF BELARUS

Aims. The Belarusian fruit genetic resources have been investigated for potential use in breeding. One of the aims of our breeding program is to create new population with combined multiple resistance to the most important diseases and damaging abiotic factors in our climate. The formation of different categories and types of collections of fruit genetic resources and rational utilization for decision of breeding tasks are very important. **Methods.** Descriptions of morphological characters were according to DUS methods, biological properties to «Program and methods of study varieties of fruit, small fruit and nut crops» (1999). **Results.** Resistance to diseases is main object for research of fruit genetic resources. The collections of different categories and types of 12 crops – apple, pear, plum, apricot, sour-cherry, sweet cherry, walnut, black and red currant, hardy kiwifruit, dog-rose, strawberry were formed. During 2006–2012 genetic fund is grown stout by 1500 accesses of different ecological-geographical origin. **Conclusions.** Genetic potential of fruit crop available in Belarus allows to use successfully it in breeding, production and for an interstate exchange, it is guarantees the most effective problem solution of fruit varieties perfection.

Key words: fruit genetic resources, collection, walnut, grape, Belarus.

КОЗУБ Н.О.^{1,2}, СОЗІНОВ І.О.¹, БІДНИК Г.Я.^{1,2}, ДЕМ'ЯНОВА Н.О.^{1,2}, СОЗІНОВ О.О.^{1,2}

¹ Інститут захисту рослин НААН

Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 33, e-mail: sial@i.com.ua

² ДУ «Інститут харчової біотехнології і геноміки НАН України»

Україна, 04123, Київ, вул. Осиповського, 2а

РЕЄСТРАЦІЯ ЗРАЗКІВ-СТАНДАРТІВ АЛЕЛІВ ЛОКУСІВ ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ СУБОДИНИЦЬ ГЛЮТЕНІНІВ *AEGILOPS BIUNCIALIS* VIS.

Дикий родич пшениці *Aegilops biuncialis* Vis. (синоніми *Ae. lorentii* Hochst., *Ae. macrochaeta* Schuttl. et Huet, *T. lorentii* (Hochst), *T. macrochaetum* (Schuttl. et Huet) K. Richt, *T. biunciale* K. Richt) (геномна формула UUM^bM^b) може слугувати джерелом нових генів стійкості до хвороб та якості для збагачення ге-

нофонду культурної пшениці. Цей вид – один з небагатьох диких родичів пшениці, що ростуть на території України, а саме – в Криму [1]. Відомо, що *Ae. biuncialis* є одним з найпоширеніших видів егілопсів, характеризується адаптацією до широкого спектру кліматичних умов [2], та значною різноманітністю за реакцією на абіо-

тичні та біотичні фактори [3].

У наших попередніх дослідженнях [4, 5] при аналізі зразків, зібраних в Криму, виявлено високий рівень поліморфізму за локусами запасних білків цього виду – гліадинів та високомолекулярних субодиниць глютенінів: ідентифіковано 14 алелів за локусом *Gli-U1*, 12 за *Gli-M^b1*, 8 за *Glu-U1*, 10 за *Glu-M^b1*.

Високомолекулярні субодиниці глютенінів безпосередньо визначають хлібопекарні якості борошна [6]. Локуси, що кодують високомолекулярні субодиниці глютенінів (*Glu-1*) у м'якої пшениці *Triticum aestivum* L. і споріднених видів, знаходяться на довгих плечах хромосом першої гомеологічної групи [6] і містять два тісно зчеплених гени, що кодують субодиниці x і y-типу. X-субодиниці мають меншу рухомість на SDS-електрофореграмах відновлених білків ендосперму, порівняно з y-субодиницями. У сортих м'якої пшениці звичайно синтезуються 3-5

Матеріали і методи

Матеріалом дослідження слугували зразки *Ae. biuncialis*, що походять з різних місцевостей Криму (Кара-Даг, Ечки-Даг, Аю-Даг, Мис Март'яян, Берегове, Піщане Бахчисарайського р-ну). Частина зразків було розмножено на дослідній ділянці (Київська обл.). Також було досліджено один зразок невідомого походження (НК О2).

Електрофорез високомолекулярних субодиниць глютенінів проводили за методикою

Результати та обговорення

Для створення колекції зразків стандартів-алелів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Ae. biuncialis*, що кодуються локусами *Glu-U1* і *Glu-M^b1*, були проаналізовані генотипи за цими локусами розмножених зразків

субодиниць: 2 кодуються локусом *Glu-D1*, 1 чи 2 локусом *Glu-B1*, і 1 або ні однієї – локусом *Glu-A1* [8]. Ці локуси характеризуються множинним алелізмом [7]. Зразки *Ae. biuncialis* можуть застосовуватись в міжвидовій гібридизації з пшеницею для перенесення нових алельних варіантів локусів *Glu-1*.

Цілеспрямоване використання зразків диких родичів в міжвидовій гібридизації передбачає їх попереднє розмноження і реєстрацію. Крім того, для використання алелів локусів запасних білків в популяційних дослідженнях важливо мати зразки-стандарт певних алелів маркерних локусів. Тому задачею даної роботи був підбір та реєстрація зразків-стандартів алелів локусів високомолекулярних субодиниць глютенінів *Ae. biuncialis* для створення колекції зразків, яка відображає рівень поліморфізму генетичних ресурсів *Ae. biuncialis* України за локусами запасних білків.

Laemmli в 10 % розділяючому гелі [8]. Для кожної зернівки *Ae. biuncialis* визначали генотип за локусами високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-U1*, *Glu-M^b1*, алелі цих локусів позначали малими латинськими літерами. Для позначення алелів високомолекулярних субодиниць глютенінів використовували складений нами каталог [4].

Ae. biuncialis. Алелі за цими локусами зустрічались серед колекції 40 зразків з різними частотами: найбільш поширеними алелями були *Glu-U1b* і *Glu-M^b1a* (табл. 1).

Таблиця 1. Частоти алелів за локусами *Glu-U1*, *Glu-M^b1* серед 40 зразків колекції *Ae. biuncialis*

Локус, алель	Частота	Локус, алель	Частота
<i>Glu-U1</i>		<i>Glu-M^b1</i>	
<i>a</i>	0.075	<i>a</i>	0.450
<i>b</i>	0.675	<i>b</i>	0.100
<i>c</i>	0.150	<i>c</i>	0.075
<i>d</i>	0.025	<i>d</i>	0.200
<i>e</i>	0.050	<i>e</i>	0.100
<i>g</i>	0.025	<i>f</i>	0.025
		<i>g</i>	0.025
		<i>h</i>	0.025

Було проведено відбір в якості стандартів алелів локусів *Glu-U1* і *Glu-M^b1* зразків з наявної колекції, що включають різні алелі за цими локусами. Додатковими умовами для відбору зраз-

ків-стандартів була достатня кількість розмноженого матеріалу та чистота зразка за спектрами запасних білків (відсутність випадкових домішок). Зазначеним критеріям відповідали 15 зра-

зків (табл. 2). Ці зразки зареєстровано в Національному центрі генетичних ресурсів рослин

України (НЦГРРУ).

Таблиця 2. Зразки, зареєстровані в якості стандартів алелів локусів *Glu-U1* і *Glu-M1* в НЦГРРУ

№ Національного каталогу	Зразок <i>Ae. biuncialis</i>	<i>Glu-U1</i>	<i>Glu-M1</i>	Походження*
UA0400157	NK 1-1	<i>b</i>	<i>b</i>	ММ
UA0400158	NK 4N2	<i>a</i>	<i>e</i>	Б
UA0400159	NK 6-2	<i>a</i>	<i>e</i>	Б
UA0400160	NK 10-3	<i>b</i>	<i>d</i>	К-Д
UA0400161	NK 11-2	<i>b</i>	<i>a</i>	К-Д
UA0400162	NK 13-1	<i>e</i>	<i>d</i>	К-Д
UA0400163	NK 14-12	<i>b</i>	<i>f</i>	К-Д
UA0400164	NK 50	<i>b</i>	<i>g</i>	К-Д
UA0400165	NK B1-1	<i>d</i>	<i>a</i>	Б
UA0400166	NK MM2-1	<i>b</i>	<i>a</i>	ММ
UA0400167	NK MM7-3	<i>c</i>	<i>a</i>	ММ
UA0400168	NK MMB-2	<i>b</i>	<i>a</i>	ММ
UA0400169	NK O2	<i>g</i>	<i>h</i>	Н
UA0400170	NK O10	<i>b</i>	<i>a</i>	К-Д
UA0400171	NK OZ-2	<i>b</i>	<i>a</i>	А-Д

Примітки: * Б -Бахчисарайський р-н, К-Д - Кара-Даг, ММ - Мис Мартъян, А-Д -Аю-Даг.

У вказаному наборі зареєстрованих зразків (табл. 2) за локусом *Glu-U1* наявні шість різних алелів: алель *a* – у двох зразків, *b* – у дев'яти зразків, по одному зразку мають алелі *c*, *d*, *e*, *g*. Вказаний набір містить не всі раніше ідентифіковані алелі за цим локусом – відсутні алелі *f*, *i*, ідентифіковані нами раніше у вибірках з природних популяцій Криму, та алель *h*, ідентифіко-

ваний у зразка грецького походження GRC-021/94 (Karpathos). Для пошуку та розмноження зразків з алелями локусу *Glu-U1 f*, *i* матеріал первинних зборів з кримських популяцій, де було знайдено ці алелі, висіяно на дослідній ділянці. Спектри високомолекулярних субодиниць глютенінів, кодовані деякими алелями локусу *Glu-U1*, наведено на рис. 1.

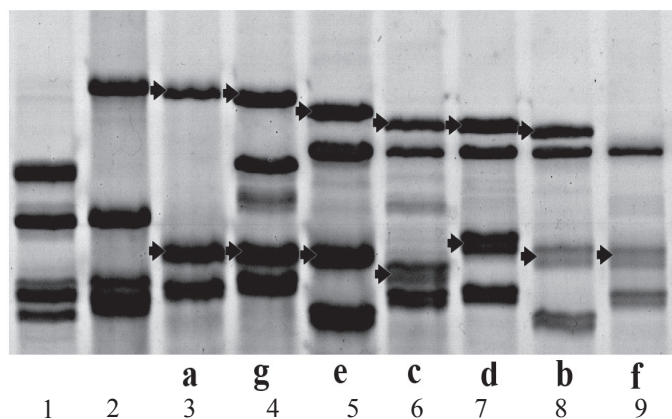


Рис. 1. Електрофореграма високомолекулярних субодиниць глютенінів зразків *Ae. biuncialis* (3-9) з алелями локусу *Glu-U1*, позначеними латинськими буквами; кодовані даними алелями компоненти позначено стрілками: 1 – *T. aestivum* Безоста 1; 2 – *T. aestivum* Eurarmil; зразки *Ae. biuncialis*: 3 – NK 4N2; 4 – NK O2; 5 – NK 13-1; 6 – NK 4-1; 7 – NK B1-1; 8 – NK 12-5; 9 – зразок з первинного збору (Кара-Даг)

Набір зареєстрованих зразків за локусом *Glu-M^b1* має сім різних алелів (табл. 2). Алель *a* - мають сім зразків, алель *b* - один зразок, алелі *d*, *e* - по два зразки, алелі *f*, *g*, *h* - по одному зразку. У вказаному наборі відсутні зразки з деякими алелями, ідентифікованими раніше [4]. Зразки з алелем *c* висіяно для отримання достатньої кількості матеріалу. Для пошуку зразків з іншими алелями висіяно на дослідній ділянці матеріал первинних зборів з природних популяцій. Спектри високомолекулярних субодиниць глютені-

нів, кодовані деякими алелями локусу *Glu-M1*, наведено на рис. 2.

Реєстрація колекції зразків *Ae. biuncialis* з різними алелями за локусами високомолекулярних субодиниць глютенінів дозволить зберегти різноманіття популяцій цього виду за даними ознаками в умовах генетичного банку (НЦГРРУ) та цілеспрямовано використовувати зареєстровані зразки для міжвидової гібридизації з пшеницею.

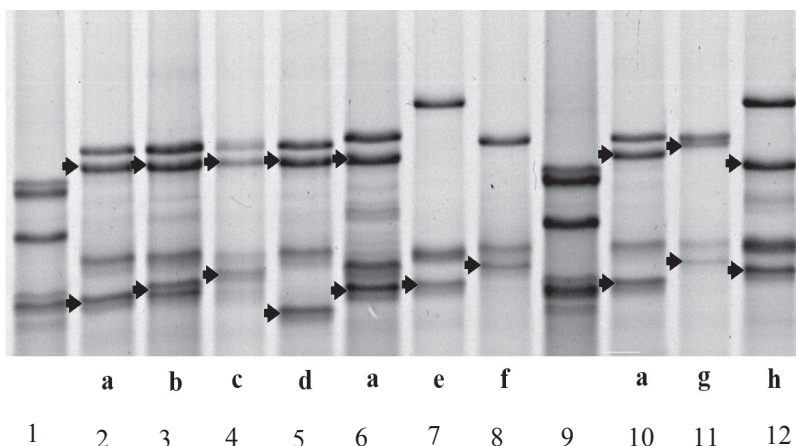


Рис. 2. Електрофореграма високомолекулярних субодиниць глютенінів зразків *Ae. biuncialis* (3-9) з алелями локусу *Glu-M1*, позначеними латинськими буквами; кодовані даними алелями компоненти позначено стрілками: 1, 9 - *T. aestivum* Безоста 1; зразки *Ae. biuncialis*: 2 - NK 13-2; 3 - NK 1-1; 4 - NK 3-4; 5 - NK 10-3; 6 - NK 4-1; 7 - NK 4N2; 8 - NK 14-12; 10 - NK 11-2; 11 - NK 50; 12 - NK O2

Висновки

Передані в НЦГРРУ та зареєстровані в Національному каталозі 15 зразків *Ae. biuncialis* можуть слугувати стандартами шести алелів ло-

кусу високомолекулярних субодиниць глютенінів *Glu-U1* і семи алелів локусу *Glu-M^b1*.

Література

1. Богуславский Р.Л., Голик О.В. Род *Aegilops* L. как генетический ресурс селекции. - Харьков, 2004. - 236 с.
2. Zaharieva M., Prospero J.M., Monneveux P. Ecological distribution and species diversity of *Aegilops* L. genus in Bulgaria // Biodiversity and Conservation. - 2004. - V. 13. - P. 2319-2337.
3. Yildiz M., Terzi H., Arkan 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, N 7. - P. 1299-1305.
4. Козуб Н.А., Созинов И.А., Ксиниас И.Н., Созинов А.А. Разнообразие аллелей локусов високомолекулярных субъединиц глютеинов *Aegilops biuncialis* Vis. // Генетика. - 2011. - Т. 47, №9. - С. 1216-1222.
5. 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, №4. - С. 473-479.
6. Payne P.I. Genetics of wheat storage proteins and the effect of allelic variation on bread-making quality // Ann. Rev. Plant Physiol. - 1987. - V. 38. - P. 141-153.
7. Payne P., Lawrence G. Catalogue of alleles for the complex gene loci, *Glu-A1*, *Glu-B1*, *Glu-D1* which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat // Cereal Res. Commun. - 1983. - V. 11, N 1. - P. 29-34.
8. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. - 1970. - V. 227, N 5259. - P. 680-685.

KOZUB N.A.^{1,2}, SOZINOV I.A.¹, BIDNYK H.Ya.^{1,2}, DEMIANOVA N.A.^{1,2}, SOZINOV A.A.^{1,2}

¹ Institute of Plant Protection, NAAS

Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 33, e-mail: sia1@i.com.ua

² State Institution «Institute of Food Biotechnology and Genomics, NAS of Ukraine»

Ukraine, 04123, Kyiv, Osypovskogo str., 2a

REGISTRATION OF *AEGILOPS BIUNCIALIS* VIS. ACCESSIONS-STANDARDS FOR ALLELES AT HIGH-MOLECULAR WEIGHT GLUTENIN SUBUNIT LOCI

Aims. The objective of the investigation was selection and registration of *Aegilops biuncialis* Vis. accessions that may serve as standards for high-molecular weight glutenin subunit alleles. **Methods.** *Ae. biuncialis* accessions derived from Crimean populations were propagated on the experimental plot. SDS electrophoresis of high-molecular weight glutenin subunits was used to identify alleles at the *Glu-U1* and *Glu-M^b1* loci.

Results. The most frequent alleles among the collection of propagated accessions of *Ae. biuncialis* were *Glu-U1b* and *Glu-M^b1a*. Fifteen accessions were registered at the National Centre of Plant Genetic Resources of Ukraine. The set of registered accessions includes six different alleles at the *Glu-U1* locus and seven alleles at *Glu-M^b1*. **Conclusions.** Fifteen accessions of *Ae. biuncialis* registered in the National catalogue of NCPGRU may serve as standards for six alleles at the *Glu-U1* locus and seven alleles at *Glu-M^b1*.

Key words: *Aegilops biuncialis* Vis., high-molecular weight glutenin subunits, alleles, registration.

ЛАПШИН П.В., ЗАГОСКИНА Н.В.

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

Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, 35, e-mail: p.lapshin@mail.ru

КРАССУЛЫ И СОДЕРЖАНИЕ В НИХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Суккулентные растения, к которым относятся подавляющее большинство представителей семейства Толстянковых (*Crassulaceae* DC.), благодаря своим морфо-физиологическим особенностям, позволяющим им «экономно» использовать воду в процессе жизнедеятельности, занимают обычно засушливые местообитания, без отрицательных температур в течение года [1–3]. Основными областями их распространения является Африканский континент и Центральная Америка. Большинство представителей семейства Толстянковых это травянистые многолетние растения с мясистыми листьями и развитой водоносной паренхимой. Благодаря легкости вегетативного размножения, способности легко образовывать межвидовые, а часто и межродовые, гибриды, в ботанических садах и коллекциях произрастает большое количество культивируемых сортов [4, 5]. Для некоторых родов, таких как Эхеверия (*Echeveria* DC.) и Крассула (*Crassula* L.), их число превышает количество природных видов. Следует также отметить, что некоторые из них используются в народной и официальной медицине как лекарственные растения, обладающие антимикробным действием, что в значительной степени обусловлено высоким содержанием таких вторичных метаболитов, как фенольные соединения, в том числе флавоноиды [6, 7].

Фенольные соединения чрезвычайно широко распространены в высших растениях. Известно, что одна из их функций связана с защитой – как от действия высокого уровня солнечного облучения, так и от поедания насекомыми или поражения паразитирующими микроорганизмами [8, 9]. В этих условиях происходит накопление флавоноидов, что отмечено в тканях различных видов растений вообще и у листовых суккулентов в частности [10].

Важным аспектом фенольного метаболизма является его взаимосвязь с фотосинтетической активностью клеток растений, поскольку именно хлоропласты участвуют в этом процессе не только как «поставщики» энергии, но и как одно из основных мест образования этих метаболитов [11, 12]. В связи с этим хлорофиллдефектные химерные растения (имеющие ткани, способные синтезировать хлорофилл или лишенные этой возможности) могут быть удобной моделью для демонстрации различий в накоплении фенольных соединений.

Растение считается химерой, когда в растущих тканях совместно присутствуют генетически разнокачественные ткани [13]. Если исключить сознательную прививку одного таксона на другой, то наиболее частые пути возникновения соматических химер таковы: длительное вегетативное размножение, регенерация расте-

ний из культивируемых *in vitro* тканей, генетические манипуляции при спонтанном и индуцированном мутагенезе [14]. Химеры, у которых генетические различия заключаются в том, что часть клеток апикальной меристемы побега неспособна синтезировать хлорофилл обычно называют хлорофиллдефектными или вариегатными. Такие растения – наиболее хорошо заметный тип химер [14, 15]. Поскольку меристема побега в высокой степени упорядочена и дефектные инициальные клетки сохраняют в ней постоянное положение, они дают начало упоря-

доченной, обычно симметричной, пестрой окраске листьев (а в ряде случаев также стеблей и цветков). Химерные хлорофиллдефектные сорта растений играют большую роль в декоративном цветоводстве из-за более оригинального внешнего облика по сравнению с нормальными экземплярами этих видов.

Целью работы было сравнение уровня накопления фенольных соединений у хлорофиллдефектных и соответствующих им нормальных растений рода *Crassula* L.).

Материалы и методы

Объектом исследования являлись сорта, у которых имелись пары: нормальное растение и его химера (с лишенными хлорофилла краями листьев, т.е. f. *Marginata*). Мы взяли две пары таких генотипов: *Crassula sarmentosa* Harv. и ее пестрый сорт с отсутствием зеленого пигмента по краям листьев и, частично, на стебле; *Crassula ovata* Lamarck var. *obliqua* и ее химера с несимметричным расположением полос (сорт *Tricolor*). Растения выращивали в фитотроне Института физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН (г. Москва, Россия) при максимально доступном уровне естественного

солнечного освещения, проникающего через тепличное стекло толщиной 3 мм. Время сбора материала – весенний период.

Для извлечения фенольных соединений фрагменты, взятые из средних частей свежих листьев растений, растирали и экстрагировали 96% спиртом (30 минут, 45°C). Экстракт центрифугировали при 16000 об/мин и надосадочную жидкость использовали для спектрофотометрического определения суммы растворимых фенольных соединений (реактив Фолина–Дениса, 725 нм) и флавоноидов (хлористый алюминий, 415 нм) [16, 17].

Результаты и обсуждение

Выбранные нами виды крассул значительно отличались по морфо–физиологическим характеристикам. *C. sarmentosa* имела длинные, ветвящиеся от основания, лежащие, рыхлооблиственные стебли, длиной до 0,5 м. Листья темно–зеленые, сердцевидной формы с зубчатым краем: длина – 3–4 см, ширина – 2–3 см. Для *C. ovata* характерна кустарниковая форма роста: толстые, мясистые, прямостоячие, сильно–ветвистые стебли высотой до 1 м. Для них характерно развитие очень сочных, темно–зеленых широко–овальных листьев длиной 3–6 см и шириной 2–4 см. Все крассулы представляли собой короткодневные виды, цветущие зи-

мой. Цветки белые, звездчатые, 5-ти членные, от 0,5 до 1 см в диаметре. Семена сухие, пылевидные, многочисленные.

Поскольку нашей основной задачей являлось выяснение особенностей накопления фенольных соединений у нормальных и химерных представителей этих видов, то мы остановили свое внимание на двух показателях, а именно, определении суммарного содержания фенольных соединений, позволяющего судить об уровне биосинтеза [18], а также флавоноидов – одних из наиболее распространенных в зеленых тканях растений их представителей [8].

Таблица 1. Содержание фенольных соединений в нормальных (НР) и хлорофиллдефектных (ХДР) листьях крассул (мг/г сыр. массы)

Вид	<i>Crassula sarmentosa</i>		<i>Crassula ovata</i>	
	НР	ХДР	НР	ХДР
Сумма ФС	28,81±0,21	15,6±0,12	2,26±0,05	3,23±0,04
Флавоноиды	5,29±0,48	0	1,1±0,03	1,99±0,01

Как следует из представленных в таблице данных, для представителей *C. sarmentosa* характерна значительно более высокая способность к образованию фенольных соединений, по сравнению с *C. ovata*. По суммарному их накоплению эти различия были 5–10 кратными, а по флавоноидам – 5-кратными. При этом у химеры *C. sarmentosa* способность к образованию фенольных соединений значительно отличалась от таковой нормального растения, чего нельзя сказать о *C. ovate*. Возможно, в последнем случае в клетках сохраняется постоянный, достаточно низкий, но необходимый для их жизнедеятельности уровень этих вторичных метаболитов. Возможно он не зависит от функционирования

Выводы

1. Показано, что в листьях нормальных и химерных (хлорофиллдефектных) растений *C. sarmentosa* содержание как суммы растворимых фенольных соединений, так и флавоноидов значительно превышает таковые представителей

хлоропластов, как об этом часто сообщалось в литературе [8, 11, 12]. Вероятно у *C. ovata* велика роль других мест биосинтеза фенольных соединений, а именно эндоплазматического ретикулула [8]. И в этом случае необходимо изучить как распределение этих веществ в растительных тканях, так и их состав.

Исходя из всего вышеизложенного, можно сделать вывод о том, что фенольные соединения являются важными и необходимыми компонентами клеточного метаболизма растений, а уровень их накопления зависит от многих факторов, в том числе и генетических характеристик растений [12, 19].

C. ovate.

2. Накопление фенольных соединений в высших растениях зависит от многих факторов, в том числе и их генетических характеристик.

Литература

1. D.J. von Willert, Eller B.M., Werger M.J.A., Brinckmann E. Desert succulents and their life strategies // Vegetatio. – 1990. – Vol. 90. – P. 133–143.
2. Shiponeni N., Allsopp N., Carrick P.J., Hoffman M.T. Competitive interactions between grass and succulent shrubs at the ecotone between an arid grassland and succulent shrubland in the Karoo // Plant Ecology. – 2011. – Vol. 212. – P. 795–808.
3. Schafer C., Luttge U. Effects of water stress on gas exchange and water relations of a succulent epiphyte, *Kalanchoe uniflora* // Oecologia. – 1986. – Vol. 71. – P. 127–132.
4. Illustrated handbook of succulent plants: Crassulaceae / Eggl U. (ed.). – Berlin Heidelberg: Springer, 2003. – 506 p.
5. Rowley G. Teratopia: The World of Cristate and Variegated Succulents. – Cactus & Co, 2006. – 288 p.
6. Быков В.А. Суслина С.Н. Байльман Р.А. Волжанова М.И. Каланхоэ перистое и дегремона: химический состав, применение в медицине (обзор) // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2010. – N 7. – С. 14–20.
7. Куцик Р.В., Зук Б.М. Каланхоэ перистое (Бриофиллум чашечковый) *Kalanchoe pinnata* (Lam.) Pers. // Провизор. – 2004. – Вып. 4. – С. 125–135.
8. Запрометов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. – 272 с.
9. Sudha G., Ravishankar G.A. Involvement and interaction of various signaling compounds on the plant metabolic events during defense response, resistance to stress factors, formation of secondary metabolites and their molecular aspects // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2002. – V. 71. – P. 181–212.
10. Wand S.J.E. Concentration of ultraviolet-B radiation absorbing compounds in leaves of a range of fynbos species // Vegetatio. – 1995. – V. 116. – P. 51–61.
11. Запрометов М.Н., Загоскина Н.В. Еще об одном доказательстве участия хлоропластов в биосинтезе фенольных соединений // Физиология растений. – 1987. – Т. 34. – С. 165–172.
12. Lattanzio V., Kroon P.A., Quideau S., Treutter, D. Plant phenolics – secondary metabolites with diverse functions. // Recent Advances in Polyphenols Research. – Oxford: Wiley-Blackwell, 2008. – V. 1. – P. 1–35.
13. Binding H., Witt D., Monzer J., Mordhorst G., Kollmann R. Plant cell graft chimeras obtained by co-culture of isolated protoplasts // Protoplasma. – 1987. – Vol. 141. – P. 64–73.
14. Burge G.K., Morgan E.R., Seelye J.F. Opportunities for synthetic plant chimeral breeding: Past and future // Plant Cell, Tissue and Organ Culture. – 2002. – Vol. 70. – P. 13–21.
15. Abu-Qaoud H., Skirvin R. M., Chevreau E. In vitro separation of chimeral pears into their component genotypes // Euphytica. – 1990. – Vol. 48. – P. 189–196.
16. Запрометов М.Н. Фенольные соединения и методы их исследования // Биохимические методы в физиоло-

- гии растений / Под ред. Павлиновой О.А. – М.: Наука, 1971. – С. 185–197.
17. Gage T.B., Wendei S.H. Quantitative determination of certain flavonol-3-glycosides // *Analytical Chemistry*. – 1950. – Vol. 22. – P. 708–711.
 18. Запрометов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. – М.: Высшая школа, 1974. – 250 с.
 19. Загоскина Н.В., Фернандо С.Ч., Федосеева В.Г., Азаренкова Н.Д., Запрометов М.Н. К вопросу о способности диплоидных и полиплоидных сортов чайных растений к образованию фенольных соединений // *Сельскохозяйственная биология*. – 1994. – №.1 – С. 117–119.

LAPSHIN P.V., ZAGOSKINA N.V.

*Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences
Russia, 127276, Moscow, Botanicheskaya str., 35, e-mail: p.lapshin@mail.ru*

CRASSULA AND THE CONTENT OF PHENOLIC COMPOUNDS

Aims. One important area of biological research is to study the various representatives of the higher plants, including in relation to their possible use for the production of biologically active secondary metabolites. These include phenolic compounds successfully used in pharmacology and medicine. The aim of the study was to investigate the accumulation of phenolic compounds in chlorophyll-defectives and corresponding normal plants of the genus *Crassula* (*Crassula* L.). **Methods.** In the leaves of plants determined the content the amount of soluble phenolic compounds and flavonoids. **Results.** Determined that in the plant leaves of *Crassula sarmentosa* content of phenolic compounds and flavonoids were significantly higher than in plant leaves of *Crassula ovate*. **Conclusions.** Consider that the accumulation of these secondary metabolites is dependent on many factors, including genetic characteristics of plants.

Key words: *Crassula*, phenolic compounds, flavonoids, genetic resources.

МАКЛЯК Е.Н., КИРИЧЕНКО В.В.

*Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева НААН
Украина, 61060, г. Харьков, пр. Московский, 142, e-mail: yuriev1908@gmail.com*

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА НА ТЕМПЕРАТУРНЫЙ РЕЖИМ МЕЖФАЗНЫХ ПЕРИОДОВ

Температура и фотопериод – важные факторы окружающей среды, определяющие продолжительность фаз вегетации подсолнечника [1].

В последние годы исследователями сельскохозяйственных культур отмечено сокращение сроков цветения и созревания растений, что связано с повышением температуры воздуха [2]. Адаптационную приспособленность к умеренным изменениям климата селекционер может обеспечить путем подбора генотипов со специфической реакцией темпов развития на температурные условия года.

В агрометеорологической практике для характеристики влияния температуры воздуха на скорость роста и развития растений используется ряд показателей, величина которых специфична как для видов растений [3], так и для отдельных сортов [4].

Отношение подсолнечника, как типичного

представителя континентального климата, к температуре существенно меняется в зависимости от фазы вегетации [5]. Согласно исследованиям, проведенным на сортах подсолнечника, установлены величины нижнего температурного предела («пороговой» температуры) прохождения межфазных периодов развития от 5°C до 15–16°C [6, 7].

В соответствии с исследованиями, проведенных на генотипах разного происхождения, в различных климатических зонах, а также в условиях искусственного климата, для подсолнечника предложены разные значения пороговой температуры роста отдельных органов растения (листьев, корня), от 4°C до 10°C [8, 9, 10].

В задачи наших исследований входило изучение особенностей влияния температуры воздуха на прохождение межфазных периодов у нового селекционного материала подсолнечника.

Материалы и методы

На протяжении 2005–2012 гг. изучали 15 коммерческих гибридов подсолнечника селекции Института растениеводства им. В.Я. Юрьева НААН: Оскил, Кий, Ясон, Эюд, Боец, Богун, Эней, Квин, Романс, Дарий, Форвард, Максимум, Зорепад, Псёл, по продолжительности вегетации наиболее полно охватывающие спектр гибридов, предложенных для выращивания в зоне Левобережной Лесостепи Украины. Планирование, организацию и проведение полевых исследований проводили по методике Б. А. Доспехова [11] на полях научного севооборота института по системе конкурсного испытания. Учетная площадь делянки – 40 м², повторение – четырехкратное, густота стояния растений – 55 тыс. раст. на 1 га. Уход за посевами – общепринятый в зоне выращивания. Учитывали сроки прохождения межфазных периодов: «всходы –

образование корзинки», «образование корзинки – цветение», «цветение – физиологическая спелость». Учетная дата – 50 % растений на делянке достигли требуемой фазы развития. Продолжительность межфазного периода – начиная со следующего дня после даты наступления предыдущей фазы и заканчивая датой наступления последующей фазы. Дата посева во все годы изучения не выходила за пределы 2–5 мая. В расчет температурных показателей включено минимальное суточное значение температуры воздуха, максимальное суточное значение и среднесуточное значение на основании восьми измерений.

Температурный режим лет исследований существенно различался (рис. 1), благодаря чему наблюдали большую изменчивость продолжительности межфазных периодов.

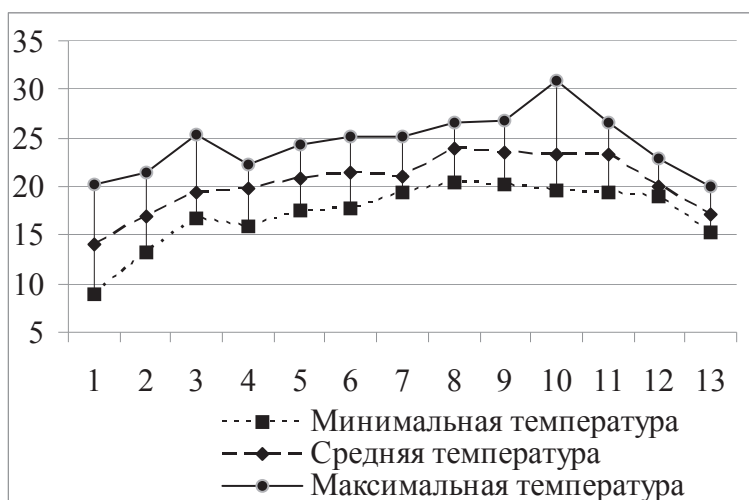


Рис. 1. Температура воздуха, °C, среднее декадное значение за годы исследований, 2005–2012 гг.

Примечания: 1 – первая декада мая, 2 – вторая декада мая, 3 – третья декада мая, 4 – первая декада июня, 5 – вторая декада июня, 6 – третья декада июня, 7 – первая декада июля, 8 – вторая декада июля, 9 – третья декада июля, 10 – первая декада августа, 11 – вторая декада августа, 12 – третья декада августа, 13 – первая декада сентября.

Оценивали среднесуточную температуру и сумму среднесуточных температур. График зависимости скорости развития генотипов от суммы среднесуточных температур, определение нижнего температурного предела развития («по-

Результаты и обсуждение

Для всех изученных гибридов достоверная обратная зависимость установлена между продолжительностью периода «всходы – образование корзинки», «образование корзинки – цветение», с одной стороны, и среднесуточными температурами за период, средними максимальными температурами за период и средними минимальными температурами за период с другой. Коэффициенты корреляции между продолжительностью периода «всходы – образование корзинки» и среднесуточными температурами находились в пределах от –0,545 до –0,842, между

роговая» температура) и минимальных сумм эффективных температур строили согласно методике [12]. Для статистической обработки опытных данных использовали пакеты StatSoft Statistica 6.0 и Microsoft Office Excel 2007.

периодом «образование корзинки – цветение» и среднесуточными температурами – от –0,410 до –0,887. У всех гибридов, за исключением гибрида Богун, абсолютные значения коэффициентов корреляции по признаку «образование корзинки – цветение» превысили значения коэффициентов корреляции по признаку «всходы – образование корзинки».

Достоверная обратная корреляция между периодом «цветение – физиологическая спелость» и температурными параметрами периода найдена у гибридов Максимум ($r = -0,662$ для

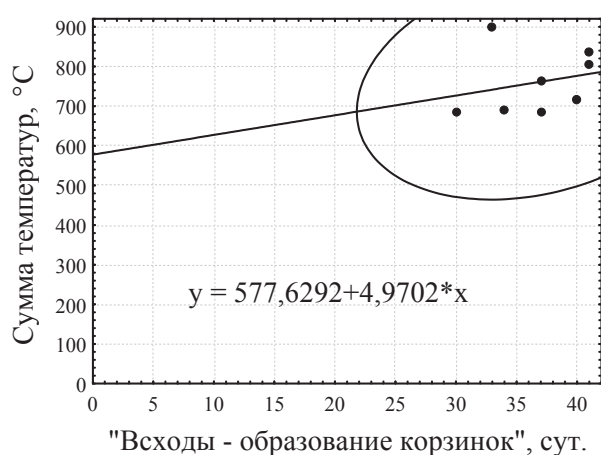
корреляции со среднесуточной температурой, $r = -0,536$ для корреляции со средней максимальной температурой, $r = -0,621$ для корреляции со средней минимальной температурой), Квин ($r = -0,742$, $r = -0,737$, $r = -0,661$), Оскил ($r = -0,535$, $r = -0,522$, $r = -0,477$), Псёл ($r = -0,571$, $r = -0,536$, $r = -0,576$).

Линейные уравнения зависимости продолжительности межфазных периодов от сумм среднесуточных температур строили для признаков с установленной достоверной корреляцией («всходы – образование корзинки», «образование корзинки – цветение»). Исходные для вычислений данные, результаты вычисления пороговых температур развития и минимальных сумм эффективных температур приведены в таблице.

Для всей выборки гибридов характерна большая продолжительность периода «всходы – образование корзинки» по сравнению с периодом «образование корзинки – цветение»; соответственно, для прохождения периода требовалась большая сумма температур. В среднем по годам исследований, период «всходы – образование корзинки» был в 1,5–1,7 раза продолжительнее, чем период «образование корзинки – цветение». По продолжительности периодов и, а также сумме среднесуточных температур за период в среднем за годы исследований достоверность различий между гибридами не установлена (на основании значений ошибок средней). Это легко объяснить большой изменчивостью

продолжительности периодов, характерной для отдельных гибридов, по годам. Например, период «всходы – образование корзинки» гибрида Зорепад изменялся от 31-х суток в 2007 году до 44-х суток в 2009 году; разница составляет порядка 30 % от средней многолетней продолжительности периода. В то же время дифференциация гибридов по продолжительности вегетации существенно зависит от годовых особенностей теплового режима, и может нивелироваться сезонным характером распределения тепла по межфазным периодам до малозначительных между генотипами различий [13].

При попарном сравнении выделены гибриды, отличающиеся пониженной пороговой температурой роста, которые требуют большую сумму эффективных температур, необходимую для перехода к следующей фазе развития. Это гибриды Ясон, Романс (по обоим расчетным периодам) и Максимус (по периоду «всходы – образование корзинки»). Так, пороговая температура периода «всходы – образование корзинки» гибрида Романс составила $5,0 \pm 2,3^\circ\text{C}$, периода «образование корзинки – цветение» $6,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$. Для сравнения, пороговые температуры этих же периодов у гибрида Дарий составили $13,4 \pm 1,2^\circ\text{C}$ и $10,8 \pm 1,4^\circ\text{C}$. Графики и уравнения регрессии гибридов Романс и Дарий для периода «всходы – образование корзинки» представлены на рис. 2.



А



Б

Рис. 2. Температурные характеристики периода «всходы – образование корзинки» гибридов подсолнечника Романс (А) и Дарий (Б), 2005–2012 гг.

Таблица. Продолжительность и температурные показатели межфазных периодов гибридов подсолнечника, 2005–2012 гг.

№ п/п	Гибрид	Период «всходы – образование корзинок»				Период «образование корзинок – цветение»			
		продолжительность, сут.	сумма суточных температур, °С	пороговая температура, °С	минимальная сумма эффективных температур, °С	продолжительность, сут.	сумма суточных температур, °С	пороговая температура, °С	минимальная сумма эффективных температур, °С
1	Оскил	35,3±3,6	695,2±46,3	9,1±1,0	374,4	20,6±3,3	435,4±41,4	10,3±1,1	223,3
2	Кий	35,4±3,6	698,3±49,5	9,6±1,0	359,1	20,6±3,1	436,0±35,5	9,0±1,1	251,1
3	Ясон	39,0±4,5	709,9±55,7	7,7±1,1	408,5	17,8±3,2	443,2±34,8	6,2±1,8	333,5
4	Ковчег	35,9±3,6	710,9±51,1	10,4±1,0	336,4	21,3±3,1	450,2±35,3	8,5±1,1	269,7
5	Этюд	35,9±4,3	711,6±71,6	13,5±1,1	226,4	21,0±3,6	445,8±43,5	10,1±1,1	234,6
6	Боец	36,0±4,2	716,2±63,8	12,2±1,0	277,3	21,3±3,3	452,0±40,9	10,1±1,1	237,6
7	Богун	35,6±3,7	719,9±56,9	10,4±1,1	349,7	22,6±2,8	433,2±80,8	8,8±3,6	233,7
8	Эней	36,3±3,4	722,0±51,9	10,4±1,0	343,7	21,5±3,6	457,0±50,2	11,4±1,4	212,5
9	Квин	37,8±4,5	754,5±65,0	11,8±0,9	308,6	21,8±3,4	467,1±39,1	9,7±0,9	256,9
10	Романс	36,6±4,0	759,7±80,4	5,0±2,3	577,6	21,4±3,1	468,2±53,8	6,5±2,5	330,2
11	Дарий	38,3±4,0	760,9±71,0	13,4±1,2	248,7	21,9±3,3	472,9±47,4	10,8±1,4	235,6
12	Форвард	38,4±3,4	766,9±51,5	10,0±1,0	382,4	22,1±3,3	477,1±42,4	10,2±1,2	251,6
13	Максимус	39,0±3,8	774,7±39,0	7,8±0,7	470,8	22,6±2,9	500,0±42,5	12,4±1,0	220,6
14	Зорепад	39,1±4,3	781,5±58,2	10,8±0,9	360,9	22,3±3,4	484,3±42,7	11,0±0,9	238,4
15	Псёл	39,1±3,8	785,5±63,4	12,0±1,1	316,9	22,5±3,1	486,8±41,4	9,5±1,3	273,5

Выводы

Сокращение продолжительности периодов «всходы – образование корзинки» и «образование корзинки – цветение» с ростом температурных показателей отмечено по всем изученным гибридам. Для периода «цветение – физиологическая спелость» характерны особенности реак-

ции отдельных гибридов на температуру воздуха. Выделены гибриды, отличающиеся пониженной пороговой температурой роста, которые требуют для прохождения межфазных периодов большую сумму минимальных эффективных температур.

Литература

1. Aiken R.M. Applying thermal time scales to sunflower development // *Agron. J.* – 2005. – № 97. – P. 746–754.
2. Craufurd P. Q. Climate change and the flowering time of annual crops / P. Q. Craufurd, T. R. Wheeler // *Journal of Experimental Botany.* – 2009. – Vol. 60, No. 9. – P. 2529–2539.
3. Руднев Г. В. Агрометеорология. – Л.: Гидрометеиздат, 1973. – 344 с.
4. Новикова Л.Ю., Дюбин В.Н., Сеферова И.В. и др. Прогнозирование продолжительности вегетационного периода у сортов яровых зерновых культур в условиях изменения климата // *Сельскохозяйственная биология.* – 2012. – № 5. – С. 78–87.
5. Дьяков А.Б. Экология подсолнечника // *Подсолнечник: монография; под общей ред. акад. В.С. Пустовойта.* – М.: Колос, 1975. – С. 29–37.
6. Мельник Ю.С. Агрометеорологические показатели для прогноза темпов развития и оценки условий уборки подсолнечника // *Тр. Центрального института прогнозов.* – 1965. – Вып. 146. – С. 117–125.
7. Миусский П.Е. Агрометеорологические условия произрастания подсолнечника на Украине: автореф. дис. канд. географ. наук / П. Миусский. – М.: Центральный институт прогнозов, 1964. – 24 с.
8. Villalobos F.J., Ritchie J.T. The effect of temperature on leaf emergence rates of sunflower genotypes // *Field Crops Research.* – 1992. – Vol. 29, iss.1 – P. 37–46.
9. Seiler G.J. Influence of temperature on primary and lateral root growth of sunflower seedlings // *Environmental and Experimental Botany.* – 1998. – Vol. 40. – P. 135–146.
10. Sadras V.O., Hali A.J. Quantification of temperature, photoperiod and population effect on plant leaf area in sunflower crop // *Crop Res. J.* – 1988. – Vol. 18. – P. 185–196.
11. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
12. Шиголов А.А. Методика составления фенологических прогнозов: сб. методич. указаний по анализу и оценке сложившихся и ожидаемых агрометеорологических условий. – Л.: Гидрометеиздат, 1957. – С. 5–18.
13. Макляк К.М. Оценка продолжительности вегетационного периода гибридов подсолнечника в годы с разным температурным режимом // *Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: збірник наукових праць IX з'їзду Укр. т-ва генетиків і селекціонерів ім. М.І. Вавилова.* – К.: Логос, 2012. – Т. 3. – С. 478–483.

MAKLYAK E. N., KYRYCHENKO V. V.

Plant Production Institute nd.a. V.Ya. Yuriev of NAAN

Ukraine, 61060, Kharkiv, Moskovskiy prospect, 142, e-mail: yuriev1908@gmail.com

SPECIFICS OF RESPONSE OF SUNFLOWER HYBRIDS TO INTERPHASE PERIOD TEMPERATURE REGIME

Aims. The aim of investigation is to study the effect of a temperature regime on the duration of interphase periods and to reveal the possible parameters of hybrid temperature characteristic using a new breeding material. **Methods.** Field evaluation of sunflower hybrids carried out via a competitive trial and determination of interphase period duration. **Results.** It has been revealed a negative correlation between the duration of interphase periods and temperature indicators. But some hybrids had their individual peculiarities. Hybrids possessed the low temperature threshold of the development have been selected. **Conclusions.** It has been recommended to use a low temperature threshold of a development and a correlation between a «flowering – physiological maturation» period duration and temperature indicator of periods.

Key words: sunflower, hybrids, interphase periods, temperature.

МАМЕДОВА Н.Х., ШИХЛИНСКИЙ Г.М., ГАСАНОВА Г.И.

Институт Генетических Ресурсов НАН Азербайджана

Азербайджан, 1106, Баку, проспект Азадлыг, 155, e-mail: naila.xurshud@yahoo.com

ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ВИЛТУ ГИБРИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ И ФОРМ ХЛОПЧАТНИКА

Роль интродукции растений на современном этапе ее развития достаточно многосторонняя. Это и направление развития ботанической науки, своеобразный раздел экспериментальной ботаники, практические результаты которой помогают прояснить те или иные вопросы теоретической ботаники. Это и источник экспериментального материала для многих сельскохозяйственных наук, в первую очередь для селекции растений. Это и способ удовлетворения материальных и культурных потребностей человечества, поскольку все культивируемые растения, в том числе и декоративные, являются интродуцентами. Это и один из методов изучения растения вне естественных мест обитания (*ex situ*), которому в последнее время придается особое значение в программе сохранения разнообразия растений [1].

Среди возделываемых полевых культур, хлопчатник наряду с другими, является важнейшей технической культурой. Хлопчатник – относится к группе прядильных культур. Основным продуктом, ради которого выращивается хлопчатник, является волокно. Несмотря на быстрое развитие химической промышленности, обеспечивающей выработку искусственного волокна в больших масштабах, хлопковое волокно по-прежнему сохраняет первостепенное значение.

Хлопководство в Китае возникло, как и в Индии до нашего летоисчисления, но несмотря на это, растение еще долго не входило в культуру. Хорошо развитое шелководство и отсутствие симподиальных форм хлопчатника являлись главными препятствиями на пути продвижения его в более северные районы.

Известно 39 видов хлопчатника. Однако, регулярно разводятся только четыре вида, точнее – множество их сортов. Генетически виды хлопчатника делятся на две группы, различающиеся числом хромосом в клетке: диплоидную и тетраплоидную. Диплоидны ($2n=26$) два культурных вида – хлопчатник индокитайский, или древовидный (*G. arboreum* L.) и хлопчатник травянистый, или гуза (*G. herbaceum* L.). Еще два вида, имеющие гораздо большее экономическое значение, – хлопчатник перуанский, или барбадосский (*G. barbadense* L.) и хлопчатник мекси-

канский, обыкновенный, или упланд (*G. hirsutum* L.) – тетраплоидны, то есть у них четыре набора хромосом ($4n=52$) [2].

Производству хлопка-сырца уделяется большое внимание. На пути к высоким и устойчивым урожаям хлопчатника, стоит немало трудностей. Однако болезни и вредители хлопчатника наносят большой вред производству этой культуры.

Среди заболеваний хлопчатника наибольший ущерб растениям наносят корневая гниль, гоммоз и вилт. Особенно вредоносным из них является вилт.

Вилт – инфекционное заболевание хлопчатника, вызывающее его увядание. Вертициллезное увядание распространено почти во всех хлопкосеющих районах, но чаще обнаруживается на посевах средневолокнистого хлопчатника. В полевых условиях болезнь обычно проявляется в фазе бутонизации или в начале цветения сначала на нижних, а позже на верхних листьях в виде округлых или угловатых, светло-зеленых, а затем желтых пятен. Располагаются они по краям листа и между жилками, а нередко сливаются и охватывают всю листовую пластинку. Нормальная зеленая окраска листа сохраняется только в виде небольших узких полосок вдоль жилок. Пораженная ткань буреет, листья засыхают и постепенно опадают. Нередко при длительном течении болезни наблюдается полное оголение растений. Коробочек на таких растениях формируется немного, к тому же они преждевременно подсыхают и раскрываются. Иногда на растении вместо опавших листьев из спящих почек появляются новые, очень мелкие листья, что приводит к еще большему истощению растений и ослаблению плодообразования.

В некоторых случаях растениям удается оправиться от заболевания, и тогда куст хлопчатника внешне выглядит нормальным. Однако, при тщательном осмотре его можно заметить укороченные междоузлия, что свидетельствует об угнетающем действии болезни на растение. При заболевании хлопчатника вилтом на попереčných или косых срезах стебля в центре или на периферии обнаруживаются побуревшие участки [3].

Возбудителями этой опасной болезни яв-

ляются грибы двух родов (*Verticillium dahliae* и *Fusarium oxysporum*), в связи с чем различают вилт вертициллезный и фузариозный. Первый поражает длинно- и средневолокнистые сорта хлопчатника, второй – тонковолокнистые сорта. В обоих случаях болезнь выражается в повреждении водопроводящей системы растения, потере тканями тургора, потемнении и закупорке ксилемных сосудов, пожелтении листьев и, наконец, засыхании всего растения. Особенно велики потери от вертициллезного вилта, хотя бы потому, что средне- и длиноволокнистые сорта занимают 93 % всех площадей, отведенных под хлопчатник.

Ввиду важности проблемы защиты хлопчатника от вилта к ее решению привлечены многие научные институты, над ней работают генетики, селекционеры, биохимики, физиологи, химики, фитопатологи, микробиологи, агрохимики [4].

Традиционные химические методы защиты растений от болезней оказались малоэффективными в борьбе с вилтом. Его возбудители проникают глубоко в почву, через корни проходят в

сосуды растений и, обитая в них, становятся малодоступными для обычных фунгицидов. Поэтому особенно важное значение приобретает выведение и быстрое внедрение в сельскохозяйственное производство вилтоустойчивых сортов хлопчатника. Успешное решение этой задачи неразрывно связано с детальным изучением биохимической природы как защитных реакций растения против возбудителя вилта, так и орудий нападения возбудителя. На этих вопросах сосредоточено внимание научных коллективов академических институтов [2].

Краткому рассмотрению результатов проводимых нами работ и посвящена настоящая статья.

Установлено, что возбудители вилта проникают не только в восприимчивые к этой болезни сорта, но и в устойчивые. Различия между сортами проявляются после попадания паразита в организм хозяина. В растениях устойчивых сортов защитные реакции возникают быстрее, протекают активнее, и потому паразит не может их преодолеть или преодолевает очень медленно.

Материалы и методы

В данной работе на искусственно-зараженном инфекционном фоне проводилась фитопатологическая оценка устойчивости гибридных форм хлопчатника вида *G. hirsutum* L. и *G. barbadense* L. к вертициллезному вилту в условиях Апшерона. Фитопатологическая оценка устойчивости к болезни проводилась по установленной Войтеноком Ф.В. методике, то есть пятибальной шкале [5].

Результаты и обсуждение

Материалом исследования служили, внутри- *G. hirsutum* L. (62) и межвидовые *G. hirsutum* L. x *G. barbadense* L. (45), гибриды хлопчатника.

Цель данного исследования – выявить, среди этих гибридов формы, обладающие имму-

Среди большого разнообразия имеющихся форм хлопчатника, имеется заметное различие по степени устойчивости к заболеванию [6, 7, 8].

- Иммунные – 0
- Высокоустойчивые – (1–5 %)
- Устойчивые – (6–10 %)
- Толерантные – (11–25 %)
- Восприимчивые – (26–50 %)
- Сильновосприимчивые – (51–100 %)

нитетом или устойчивостью к вертициллезному вилту для селекционных программ. Нами проводилась фитопатологическая оценка устойчивости к вилту 62 внутривидовых гибридов хлопчатника вида *G. hirsutum* L. (табл.).

Таблица. Фитопатологическая оценка поражаемости вилтом внутри- и межвидовых гибридов хлопчатника

Степень поражаемости, %	Устойчивость, в баллах	Внутривидовые		Межвидовые	
		число	%	число	%
Иммунные – (0)	0	2	3,2	20	44,5
Высокоустойчивые – (1–5)	1	0	0	0	0
Устойчивые – (6–10)	2	0	0	3	6,7
Толерантные – (11–25)	3	11	17,8	10	22,2
Восприимчивые – (26–50)	4	31	50	11	24,4
Сильновосприимчивые – (51–100)	5	18	29	1	2,2
Всего:		62		45	

Как видно, из представленной таблицы, количество иммунных растений было 3,2 %, толерантных форм было – 17,8 %, восприимчивых – 50 %, сильновосприимчивых – 29 %, высокоустойчивых и устойчивых форм среди внутривидовых гибридов не встречалось.

Полученные данные показали, что 50 % внутривидовых гибридов оказались восприимчивыми к этой болезни.

Устойчивые к заболеванию вилтом гибриды реагируют на воздействие гриба-паразита в меньшей степени, проявляя большую стабильность, чем восприимчивые. Устойчивыми к вертициллезному вилту оказались следующие сортообразцы: №97, №104, №140, №152, №164, №172, №180 и другие. Замена восприимчивых сортов хлопчатника относительно вилтоустойчивыми дает положительный эффект в отношении снижения вилта. Большинство исследователей допускают, что внедрение относительно вилтоустойчивых сортов является наиболее эффективным мероприятием, которое может решить проблему вилта [3].

Нами проводилась также оценка устойчивости 45 межвидовых гибридов хлопчатника на искусственно-инфекционном фоне. Как видно, из представленной таблицы, количество иммунных растений было 44,5 %, устойчивых – 6,7 %, толерантных – 22,2 %, восприимчивых – 24,4 %, сильновосприимчивых – 2,2 %, высокоустойчивых форм среди межвидовых гибридов не встречалось.

Математическая обработка результатов и сравнение данных по двум вариантам опыта показали, что наиболее интенсивно вертициллезом поражались растения внутривидовых гибридов хлопчатника. Их количество достигало 50 %.

Устойчивые к заболеванию вилтом растения реагируют на воздействие гриба-паразита в меньшей степени, проявляя большую стабильность, чем восприимчивые.

Выводы

Опыт селекции культурных растений на устойчивость к болезням показывает, что истинно устойчивый сорт может быть создан путем отдаленной гибридизации и дальнейшим испытанием их в течение нескольких лет на специальном провакационном фоне.

Оценка устойчивости межвидовых гибридов хлопчатника к вертициллезному вилту показала, что наилучшими оказались следующие гибриды: 617-Т x Termez-7; 147-Ф x Todlo-16; Pima-5-1 x 3273; 5476-U x Мутант-487; Pima-S-4

При рассмотрении вопроса о механизме вилтоустойчивости хлопчатника большое внимание обычно отводится выяснению анатомического барьера, посредством которого устойчивые сорта могли бы противостоять проникновению из почвы в их корневую систему гриба-паразита. Однако, исследования показывают, что нет существенной разницы в проникновении и расселении патогена по проводящим сосудам как у восприимчивых, так и устойчивых разновидностей хлопчатника. При заражении вертициллезом различных сортов гриб-паразит в течение сравнительно короткого времени достигает проводящих сосудов ксилемы и распространяет по ним споры, прорастание которых зависит от состояния растения-хозяина.

Распространившись по проводящим сосудам растений восприимчивых сортов, гриб быстро вызывает ответную реакцию со стороны хозяина по линии смещения обмена веществ в направлении усиления гидролитических процессов и образования фенольных соединений. Наряду с этим увеличивается накопление гриба в проводящих сосудах, что вызывает еще большее воздействие его на растение-хозяина, в результате которого усиливается нарушение обмена веществ, наступает увядание и гибель растения.

Иная картина наблюдается при поражении вертициллезом устойчивых разновидностей хлопчатника. В данном случае проникновение гриба в проводящие сосуды может не вызвать заметного нарушения в растении обмена веществ. При этом распространившиеся споры гриба по проводящим сосудам хозяина в основном остаются не проросшими, в результате чего количественное накопление паразита в сосудах выражено очень слабо. Следовательно, болезнь у растений остается в угнетенной форме из-за того, что паразит не в состоянии резко нарушить характерные процессы обмена веществ растения-хозяина.

x 18819; Antep x 159-F; S-2607 x kk-1543; AP-200 x S-5497; Acala-1517 BR x Antep. У этих гибридов также и масса одной коробочки была выше 5 г, что является показателем высокой урожайности.

Таким образом, полученные нами межвидовые гибриды могут быть использованы в селекционном процессе в качестве доноров устойчивости к вертициллезному вилту при создании новых устойчивых и толерантных сортов хлопчатника.

Література

1. Карпун Ю.Н. Основы интродукции растений // Hortus botanicus. – 2004. – Vol. 2. – С. 17–32.
2. Губанов Я.В. Технические культуры. – Москва: Агропромиздат, 1986. – 181 с.
3. Мирпулатова Н.С., Камилова М.Х. Мероприятия по сохранению устойчивости хлопчатника к вертициллезному вилту. – Москва, 1973. – 8 с.
4. Пересыпкин В.Ф. Сельскохозяйственная фитопатология. – Москва: Агропромиздат, 1989. – 480 с.
5. Войтенко Ф.В. Методика долгосрочного прогноза вертициллезного вилта хлопчатника. – Москва: Колос, 1970. – 15 с.
6. Шихлинский Г.М., Мамедова Н.Х., Мамедова А.Д., Абдулалиева Г.С., Гасанова Г.И. Сравнительная оценка устойчивости внутри- и межвидовых гибридов хлопчатника к биотическим и абиотическим факторам среды. Сборник научных трудов «Факторы экспериментальной эволюции организмов». – Киев: Логос, 2010. – Т. 8. – С. 468–471.
7. Мамедова Н.Х. Фитопатологическая оценка устойчивости гибридов хлопчатника к вертициллезному вилту. Первые Международные Беккеровские Чтения. – Волгоград, 2010. – Ч. 1. – С. 140–141.
8. Мамедова Н.Х. Сравнительная оценка гибридных форм хлопчатника на устойчивость к фитопатогенам // Международный научно-практический журнал «Иммунопатология, аллергология, инфектология». – 2010. – № 1. – С. 117.

MAMMADOVA N.Kh., SHIKHLINSKI H.M., GASANOVA G.I.

Genetic Resources Institute of the National Academy of Sciences

Azerbaijan, Az 1106, Baku, Azadlig Ave., 155, e-mail: naila.xurshud@yahoo.com

STUDY OF RESISTANCE OF INTRADUCED COTTON VARIETIES AND FORMS TO WILT HYBRIDS

Aims. On artificial-infections background the phytopathological assessment of Verticillium wilt resistance was carried out in interspecific hybrids of cotton. **Methods.** Phytopathological used methods are tested for the first generation (F₁) cotton hybrids. **Results.** Resistance assessment of interspecific cotton hybrids to Verticillium wilt showed that these were the best hybrids: 617-T x Termez-7; 147-Ф x Todlo-16; Pima-5-1 x 3273; 5476-U x Мутант-487; Pima-S-4 x 18819; Antep x 159-F; S-2607 x kk-1543; AP-200 x S-5497; Acala-1517 BR x Antep. These hybrids were higher than 5 g., which was an indicator of high productivity. **Conclusions.** Experience of plant resistance to diseases shows that resistant varieties can be achieved by distant hybridization and they can be further tested for several years on a special background. Thus obtained interspecific hybrids can be used in the selection process as donors for this Verticillium wilt resistance in forming new resistant and tolerant cotton varieties.

Key words: Cotton, phytopathologi, resistance, hybrids, wilt.

МОСУЛА М.З.¹, КОНВАЛЮК І.І.², МЕЛЬНИК В.М.², ДРОБИК Н.М.¹

¹ Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка
Україна, 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2, e-mail: maryanamosula@gmail.com

² Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Україна, 03680, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: kunakh@imbg.org.ua

ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ЧОРНОГІРСЬКИХ ПОПУЛЯЦІЙ *GENTIANA LUTEA* L. (*GENTIANACEAE*) З УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ: RAPD-АНАЛІЗ

Популяційно-генетичний підхід є одним з основних, що використовується для збереження біологічного різноманіття рідкісних та зникаючих видів рослин, які зазнають значного антропогенного пресингу. До таких рослин належить офіційний вид тирлич жовтий (*Gentiana lutea* L.) флори України, віднесений до категорії вразливих [1]. Аналіз генетичної структури та мінливості *G. lutea* важливий для на-

ступної розробки науково обґрунтованих підходів його збереження. Особливого значення в цьому контексті набуває оцінка як внутрішньовидової мінливості, так і варіабельності на міжта внутрішньопопуляційному рівнях з використанням ДНК-маркерів. Молекулярно-генетичний аналіз дозволить отримати інформацію про генетичну різноманітність виду, унікальність генофонду окремих популяцій та

з'ясувати, наскільки їм загрожує інбредна депресія – один з головних чинників генетичної ерозії популяцій.

Метою роботи було вивчення популяцій-

Матеріали і методи

Генетичну варіабельність *G. lutea* оцінювали на основі аналізу 45 зразків із трьох популяцій (по 15 рослин з кожної популяції), розташованих на полонині Лемська, між вершинами гір Шешул і Павлик та на г. Пожижевська (усі з хребта Чорногора, Українські Карпати). Чисельність особин у популяціях складала 156 тис., 2120 тис. і 10 тис. відповідно.

Виділення ДНК, гель-електрофорез продуктів ампліфікації, умови проведення полімеразної ланцюгової реакції з праймерами довільної послідовності та нуклеотидні послідовності використаних праймерів наведено у роботі [2]. Протестовано 27 RAPD-праймерів, 10 з яких

Результати та обговорення

RAPD-праймери забезпечували ампліфікацію фрагментів у межах 250–3000 п.н. Враховано 202 амплікони, з них 123 – для рослин з лемської популяції, 104 – з пожижевської і 97 – шешульської. При цьому кількість унікальних фрагментів коливалася від 27 до 44, фіксованих – від 34 до 41. Розраховані значення показників генетичної варіабельності представлені у табл.

Порівняння трьох досліджених популяцій

Таблиця. Значення основних показників генетичного поліморфізму досліджених популяцій *G. lutea* за даними RAPD-аналізу

Популяція	Враховано ампліконів, шт.	Фіксовані амплікони, шт.	Унікальні амплікони, шт.	Частка поліморфних ампліконів (P), %	Очікувана гетерозиготність (H_e)	Індекс Шеннона (S)	Генетичні відстані між рослинами за Жакардом (D_j), %	Середня генетична відстань між рослинами за Жакардом (D_j), %
пол. Лемська	111	34	44	37,62	0,122 ±0,012	0,186 ±0,018	19,18 – 52,81	36,47
г. Шешул і Павлик	97	34	38	30,69	0,103 ±0,012	0,156 ±0,018	12,68 – 45,24	29,71
г. Пожижевська	104	41	27	30,69	0,102 ±0,012	0,153 ±0,018	14,29 – 37,50	23,97
У середньому	104	36	36	33,00	0,109 ±0,007	0,165 ±0,010	15,38 – 45,18	30,05
Сумарна вибірка рослин	202	8	–	96,04	0,247 ±0,010	0,393 ±0,014	12,68 – 86,44	63,27

На дендрограмі генетичних відносин між популяціями за генетичними відстанями H_e (рис.) зразки з пожижевської популяції були

но-генетичного різноманіття чорногірських популяцій *G. lutea* з використанням RAPD-маркерів.

забезпечували синтез чітких відтворюваних ампліконів і були відібрані для подальших досліджень. На основі отриманих даних за допомогою програми FAMD 1.21 beta розраховано генетичні відстані Жакарда (D_j) [3] та методом UPGMA побудовано дендрограму генетичної подібності досліджених зразків. Показники генетичного поліморфізму популяцій (частку поліморфних ампліконів (P), незміщену генну різноманітність H_e (очікувану гетерозиготність H_e), індекс Шеннона (S)) та метод непараметричного аналізу молекулярної дисперсії (AMOVA) розраховували з використанням програми GenAlEx 6.5 Tut2 [4].

показало подібність рівня їхнього генетичного поліморфізму. Загалом показники були дещо вищими у випадку лемської популяції, і близькими за значенням (зокрема S, H_e) або однаковими (P) для шешульської та пожижевської популяцій. Середнє для трьох популяцій значення генетичних відстаней D_j між рослинами складало 30 % (табл.).

ближчими до лемської, тоді як зразки з гір Шешул і Павлик генетично більш віддалені.

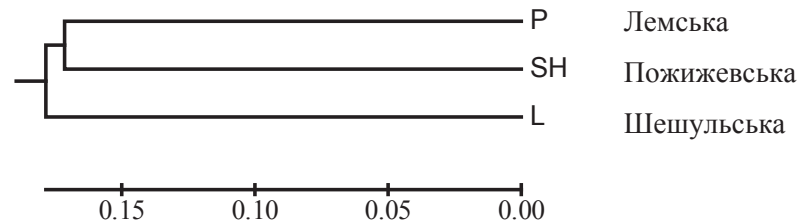


Рис. Дендрограма генетичних відносин між популяціями *G. lutea*, побудована методом UPGMA за генетичними відстанями Nei на основі даних RAPD-аналізу

Порівняння отриманих даних щодо рівня генетичного поліморфізму для *G. lutea* із описаними в літературі для інших видів родини *Gentianaceae*, виявило співрозмірні або вищі показники мінливості у наших дослідженнях. Так, середні значення генетичних відстаней *G. nivalis* за результатами RAPD-аналізу ($D_j=20,9$ і $27,5$ %) були подібними з *G. lutea* [5]. Молекулярно-генетичний аналіз представників *Gentianaceae* з використанням ISSR-маркерів виявив, що індекс Шеннона був меншим у випадку *G. atuntsiensis* W. W. Smith, *G. striolata* T.N. Но ($0,225$ і $0,273$ відповідно) [6] та *Megacodon stylophorus* (Clarke) Smit ($0,0792$) [7] порівняно з отриманим нами для *G. lutea* ($0,393$). Оцінюючи генетичний поліморфізм за показником H_e , встановлено, що отримані нами дані були вищими відносно результатів дослідження *Megacodon stylophorus* ($0,0532$) (ISSR-аналіз) [7], проте нижчими у порівнянні з *G. crassicaulis* Duthie ex Burk. ($0,32-0,78$) (SSR-аналіз) [8].

Відомо, що одним із основних факторів, який визначає генетичну структуру виду, є спосіб розмноження. Більша генетична різноманітність характерна для видів рослин, які розмножуються генеративно, тоді як повний або частковий перехід до вегетативного розмноження призводить до збіднення генофонду [9, 10]. На основі результатів еколого-популяційних досліджень Майорової О.Ю. та співробітників (неопубліковані дані) встановлено, що для рослин лемської, шешульської та пожижевської популяцій властивий переважно генеративний спосіб розмноження. Очевидно це, поряд з іншими чинниками, забезпечує відносно високий рівень їх генетичної гетерогенності.

Окрім способу розмноження рівень генетичної мінливості може залежати від розмірів популяцій, щільності особин, дрейфу генів та генетичної ізоляції популяцій. Зокрема показано, що високий генетичній різноманітності сприяють великі розміри та щільність популяції. При цьому значна чисельність особин може запобігти інбридингу і генетичному дрейфу [6].

Так, на основі результатів RAPD-аналізу двох різних за розміром популяцій *G. nivalis* [7] та одинадцяти популяцій *Gentianella germanica* L. (*Gentianaceae*) виявлено позитивну кореляцію між геномною мінливістю і розмірами популяцій [11]. Аналіз отриманих нами результатів свідчить про відсутність такої кореляції у *G. lutea*: чисельність особин шешульської популяції на порядок більша за лемську, тоді як рівень поліморфізму дещо вищий в останній. Високі показники генетичної варіабельності пожижевської популяції при малій чисельності особин, очевидно, зумовлені її походженням з шешульської [12]: значний початковий рівень гетерогенності зберігся навіть після тривалого (~ 40-річного) ізолюваного росту.

За результатами AMOVA частка відмінностей між популяціями *G. lutea* в загальному розподілі генетичного різноманіття становила 72 %, а поліморфізму всередині популяцій – 28 %. Цілком імовірно, це зумовлено особливостями генетичної структури виду, зокрема значною диференціацією окремих популяцій, що в свою чергу може бути спричинене еколого-географічними умовами зростання цих високогірних рослин. Адже відомо, що генетична диференціація між популяціями може збільшуватися в результаті ізоляції, спричиненої фрагментацією місць зростання [13].

Таким чином, на основі проведеного молекулярно-генетичного дослідження встановлено особливості генетичної структури та рівень мінливості трьох чорногірських популяцій *G. lutea*. Виявлено, що для *G. lutea* характерним є відносно високий рівень генетичної гетерогенності. Показано, що значення генетичного поліморфізму між популяціями були вищими порівняно з внутрішньопопуляційною мінливістю, що можна пояснити значною диференціацією досліджених популяцій. Отримані результати свідчать про відсутність загрози генетичної ерозії цього виду.

Література

1. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Я.П. Дідуха. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
2. Твардовська М.О., Страшнюк Н.М., Мельник В.М., Конвалюк І.І., Кунах В.А. RAPD-аналіз геномного поліморфізму деяких видів роду *Gentiana* L. флори України // Доповіді Національної академії наук України. – 2009. – № 5. – С. 200–204.
3. Schluter P.M., Harris S.A. Analysis of multilocus fingerprinting data sets containing missing data // Molecular Ecology Notes. – 2006. – № 6. – P. 569–572.
4. Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Molecular Ecology Notes. – 2006. – № 6. – P. 288–295.
5. Raica P., Pamfil D., Botez C., Gaboreanu M.I., Pătrascu B., Kovacs K. The Assessment of Two Populations of *Gentiana nivalis* by RAPD Markers // Buletin USAMV-CN. – 2006. – Vol. 62. – P. 228–231.
6. Zhang X.-L., Yuan Y.-M., Ge X.-J. Genetic structure and differentiation of *Gentiana atunsiensis* W.W. Smith and *G. striolata* T.N. Ho (*Gentianaceae*) as revealed by ISSR markers // Bot. Journal of the Linnean Society. – 2007. – Vol. 154 – P. 225–232.
7. Ge X.-J., Zhang L.-B., Yuan Y.-M. Strong genetic differentiation of the East-Himalayan *Megacodon stylophorus* (*Gentianaceae*) detected by Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR) // Biodivers Conserv. – 2005. – Vol. 14. – P. 849–861.
8. Li Y., Li L.-F., Chen G.-Q., Ge X.-J. Development of ten microsatellite loci for *Gentiana crassicaulis* (*Gentianaceae*) // Conservation Genetics. – 2007. – Vol. 8, № 6. – P. 1499–1501.
9. Bushakra J.M., Hodges S.A., Cooper J.B., Kaska D.D. The extent of clonality and genetic diversity in the Santa Cruz Island ironwood, *Lyonothamnus floribundus* // Molecular Ecology. – 1999. – Vol. 8, №3. – P. 471–475.
10. Kery M., Matthies D., Spillmann H.-H. Reduced fecundity and offspring performance in small populations of the declining grassland plants *Primula veris* and *Gentiana lutea* // J. of Ecology. – 2000. – Vol. 88. – P. 17–30.
11. Fisher M., Matthies D. RAPD variation in relation to population size and plant fitness in the rare *Gentianella germanica* (*Gentianaceae*) // Am. J. Bot. – 1998. – Vol. 85, №6. – P. 811–819.
12. Бедей М.І., Кризь О.П., Волощук М.І., Маханець І.А. Тирлич жовтий (*Gentiana lutea* L.) в Українських Карпатах. – Ужгород, 2010. – 134 с.
13. Oostermeijer J.G.B., Luijten S.H., den Nijs J.C.M. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation // Biological Conservation. – 2003. – Vol. 113, №3. – P. 389–398.

MOSULA M.Z.¹, KONVALYUK I.I.², MEL'NYK V.M.², DROBYK N.M.¹

¹ Ternopil National Volodymyr Hnatiuk Pedagogical University

Ukraine, 46027, Ternopil, M. Kryvonis str., 2, e-mail: maryanamosula@gmail.com

² Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine

Ukraine, 03680, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 150, e-mail: kunakh@imbg.org.ua

EVALUATION OF GENETIC POLYMORPHISM IN CHORNOGORA POPULATIONS OF *GENTIANA LUTEA* L. (*GENTIANACEAE*) FROM UKRAINIAN CARPATHIANS: RAPD-ANALYSIS

The *aim* of the work was to study population genetic diversity of three Chornogora populations of *Gentiana lutea* L. using RAPD markers. Molecular-genetic analysis allows to generate information on species genetic diversity, uniqueness of gene pool in isolated populations and elucidate to what extent they are endangered by the inbred depression. This is essential for further development of scientifically substantiated approaches to conservation of this species. **Methods.** Genetic variability of 45 plants from three populations of *G. lutea* was estimated by RAPD-analysis using 10 primers. **Results.** Comparison of three populations under study revealed similarity of their genetic polymorphism. As evidenced from the dendrogram of the genetic relations between populations, samples from Pozhyzhivska population were closer to Sheshul population one, while those from Lemska mountain valley are genetically more distant. By the results of AMOVA the proportion of distinctions between *G. lutea* populations within the general distribution of genetic variation made up 72 %, while that of polymorphism inside populations constituted 28 %. **Conclusions.** Comparison of the data obtained as regards the level of genetic polymorphism in *G. lutea* with those described for other species from family *Gentianaceae* found comparable or higher indices of variation in our studies. Our findings may suggest the absence of threat for genetic erosion of this species.

Key words: genetic polymorphism, RAPD-analysis, *Gentiana lutea* L., Chornogora populations, inter- and intrapopulation variability.

ОПАЛКО А.І., АНДРІЄНКО О.Д., ОПАЛКО О.А.

Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАН України

Україна, 20300, Умань, Черкаської обл., вул. Київська, 12А, e-mail: opalko_a@ukr.net

ПОСТТРАВМАТИЧНА РЕГЕНЕРАТИВНА СПРОМОЖНІСТЬ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *AMELANCHIER* MEDIK.

Рід *Amelanchier* Medik., у межах якого розрізняють близько 25 циркумполярно поширених у зонах помірного клімату видів ірги, донедавна включали до складу підродини *Maloideae* C. Weber (*Pomoideae* Focke), що належить до родини *Rosaceae* Juss. [6]. Однак у ботанічній літературі дотепер можна натрапити на 130–250 латинських назв, з яких в оприлюдненому у 2010 році науковцями Королівських ботанічних садів Кью і Ботанічного саду Міссурі спільному робочому переліку відомих видів рослин лише 14 отримали статус визнаних [14]. Натомість до списку рослин Інтегрованої системи таксономічної інформації (ITIS) у статусі визнаних на 2012 рік налічуємо 28 видових назв [11]. Решта вважаються непевними (напів- та/або тимчасово визнаними) назвами, синонімами, назвами внутривидових таксонів та/або міжвидових гібридів [5]. Внаслідок чергової ревізії родини *Rosaceae*, яка не завершена дотепер, пропонується ліквідувати під родину *Maloideae* [8–10, 12], а роди, що входили до її складу, окремі автори [13] вважають за доцільне об'єднати у під родину *Pyroideae* Burnett (*Maloideae*), тоді як більшість дослідників філогенії яблуневих визнають за доконаний факт поглинання колишньої підродини *Maloideae* підтрибою *Pyrinae* Dumort., що входить до триби *Pyreae* Baill., надтриби *Pyrodae* Camp., Ev., Morg. et Dick., підродини *Spiraeoideae* C. Agardh, родини *Rosaceae* Juss. [5, 9, 10, 12].

Майже всі відомі види ірги мають північноамериканське походження, однак є один європейський вид – *A. ovalis* Medik. [= *A. rotundifolia* [Lam.] Dum.-Cours.] та один азійський – *A. asiatica* (Sieb. & Zucc) Endl. ex Walp. [3]. Видове різноманіття ірги в Україні небагате. Тут ростуть переважно два тетраплоїдні 68-хромосомні види: ірга звичайна, або овальна – *A. ovalis* Medik. та ірга канадська – *A. canadensis* (L.) Medik. У наукових установах, садово-

паркових насадженнях і приватних колекціях крім згаданих двох видів можна натрапити на рослини ірги колосистої – *A. spicata* (Lam.) K. Koch, ірги малоплідної – *A. bartramiana* (Tausch) M. Roem., ірги вільхолоистої – *A. alnifolia* (Nutt.) Nutt. ex M. Roem., ірги ряноквітучої – *A. alnifolia* var. *semiintegrifolia* (Hook.) C.L. Hitchc. та представників деяких інших видів [5, 6]. Поліплоїдія, спонтанна гібридизація, а також схильність до апоміксису у роді *Amelanchier* [9], що спричинює появу так званих агамовидів [10], а велика кількість дивергентних і проміжних форм, істотне морфологічне варіювання ознак вегетативних і генеративних органів зумовлюють певні таксономічні труднощі [5].

Разом з тим, для успішного ведення селекції плодівих і декоративних сортів ірги, як і для селекції решти культурних рослин, необхідно мати вихідний матеріал, що відповідає селекційному завданню, а його пошук може бути ефективним за умови всебічної оцінки антропоадаптивного потенціалу наявного генофонду [6, 7], зокрема посттравматичної регенеративної спроможності представників окремих видів [2], а також достатньої поінформованості селекціонера щодо походження джерел і донорів шуканих ознак і їхніх зв'язків з дикорослими й культивованими родичами [1].

Регенераційні процеси у рослин зумовлюються багатьма чинниками. З-поміж них одне з провідних місць займають філогенетичні особливості, які в найбільш концентрованому вигляді можуть бути узагальнені в генотипі кожного виду, різновиду, форми або сорту [2].

Усвідомлення цінності видів ірги для плодівництва і декоративного садівництва [3, 4] спонукало до вивчення посттравматичної регенеративної спроможності окремих її представників з колекції Національного дендрологічного парку «Софіївка» НАН України (НДП «Софіївка»).

Матеріали і методи

У насадженнях НДП «Софіївка» вивчали рослини двох видів роду *Amelanchier*, а саме – *A. ovalis* та *A. spicata*. Ірга овальна – *A. ovalis*, як вже було зазначено, є видом з європейським ареалом, що використовується як плодова,

декоративна та меліоративна культура [3, 4]. Її природний ареал включає територію Криму. Щодо походження ірги колосистої – *A. spicata*, виду, що в Україні належить до інтродукованих представників роду *Amelanchier*, то його пряме

північноамериканське походження нині ставиться під сумнів. Висловлюється припущення [3], що ірга колосиста вищепилась з ірги канадської – *A. canadensis* і натуралізувалась у природні фітоценози Європи у XVIII–XIX сторіччях. Зв'язок ірги колосистої з іргою канадською підтверджується рядом ботаніків [14], котрі вважають *A. spicata* синонімом підвиду ірги канадської – *A. canadensis* subsp. *spicata* (Lam.) Á. Löve & D. Löve. Натуралізація відбулася настільки успішно, що російськими науковцями висловлюються застереження стосовно небезпеки інвазії цього виду [3].

У наших досліджах посттравматичну регенеративну спроможність рослин ірги овальної та ірги колосистої вивчали аналізуючи

темпи і якість гоєння штучних поранень пагонів. Для цього, починаючи з третьої декади березня і до початку жовтня, на однорічних приростах минулого року плодоносних представників згаданих видів щодаки робили надрізи спеціально виготовленим різцем. У місці надрізу утворювалася ранка завдовжки 10–12 мм і завширшки 1,5 мм, яку для захисту від пересихання і інфекції закривали прозорим скотчем. За заростанням ранки спостерігали з допомогою лупи, а інтенсивність калюсогенезу оцінювали за 9-бальною шкалою, використовуючи рекомендації І.А. Бондоріної (2000), адаптувавши їх для 9-бальної шкали і відповідно модифікувавши формулу розрахунку коефіцієнта регенерації в одиницях регенераційного коефіцієнта (орк):

$$R = \frac{S^2}{n_1 + n_2}$$

де R – регенераційний коефіцієнт (орк);

S – інтенсивність калюсогенезу (бал);

n_1 – кількість діб від поранення до появи перших ознак калюсу;

n_2 – кількість діб від поранення до завершення або припинення розвитку калюсу.

При огляді ранки оцінку в один бал виставляли аналізованій рослині, якщо формування калюсу не відбувалось або його поверхня не перевищувала 5 % поверхні ранки.

Результати та обговорення

Унаслідок оцінювання динаміки регенераційного потенціалу рослин ірги овальної та ірги колосистої за календарними датами 2012 року і фазами розвитку з'ясувалось, що на місці вирізування ділянки периферійних тканин на пагоні ірги овальної залежно від дати поранення калюс починає формуватись на 2–22 добу після штучного травмування. У ірги колосистої перші ознаки неморфогенного калюсогенезу з'явилися на 1–20 добу, тобто майже одночасно. У представників вивчених видів найшвидше гоїлись ранки від штучних поранень виконаних у третій декаді квітня, про що свідчить більш високий показник регенераційного коефіцієнта, який у середньому впродовж 10 діб досягнув показника 6,23 орк. Зменшення регенераційного потенціалу в обох

Відповідно оцінку 9 балів отримували рослини, ранки яких загоювались з площами калюсу 87,5–100 % від загальної площі поранення [5].

видів розпочалося у третій декаді травня, однак якщо у *A. spicata* показник регенераційного коефіцієнта зменшився до 2,70 орк, то у *A. ovalis* він опустився до 1,94 орк. Надалі у *A. spicata* показники регенераційного коефіцієнта почали зростати, піднялися до 5,40 орк і трималися на рівні 4,05–5,40 орк до третьої декади серпня, а до 4 жовтня зменшилися до 0,03 орк (рис.).

Порівняння темпів і інтенсивності гоєння ранок з датами поранення *A. spicata* дає змогу умовно розділити вегетаційний період за регенераційним потенціалом на п'ять етапів – інтенсивне наростання регенераційного коефіцієнта; різкий спад; збільшення; відносна стабілізація на середньому рівні; поступове зменшення.

Дещо по-іншому змінювались показники регенераційного коефіцієнта у *A. Ovalis*.

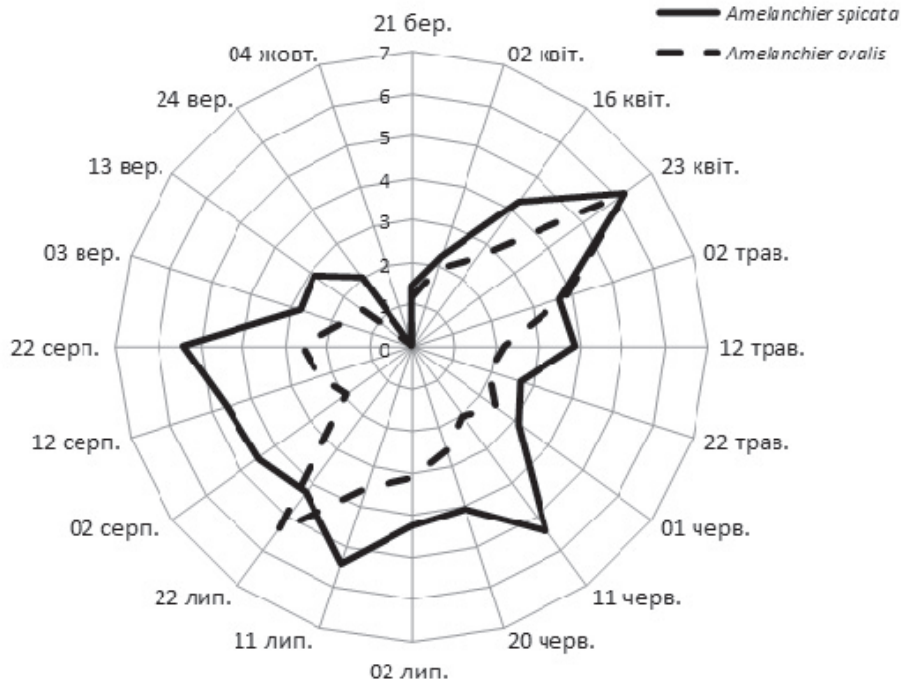


Рис. Коефіцієнт неморфогенного калусогенезу видів ірги залежно від дати поранення

Після істотного спаду темпів і інтенсивності гоєння поранень, зроблених у третій декаді травня, зростання регенераційного потенціалу почалося у третій декаді червня і 22 липня досягло свого другого піку 5,40 орк. Надалі спостерігали новий різкий спад до 1,89 орк на початку серпня, невелике збільшення до 2,31–2,61 орк впродовж другої–третьої декад серпня, а від третього вересня до четвертого жовтня регенераційний потенціал досліджуваних рослин *A. ovalis* у середньому зменшився до 0,06 орк. Тобто якщо етап відносної стабілізації у *A. spicata* тривав упродовж восьми декад на досить високому рівні, то в *A. ovalis* етап відносної стабілізації тривав з другої декади травня до третьої декади червня на досить низькому рівні. Відповідно п'ять етапів були такими: інтенсивне наростання регенераційного коефіцієнта; різкий спад; відносна стабілізація на нижче середньому рівні; збільшення до вище середнього рівня; поступове зменшення.

Порівняння мінливості регенераційного потенціалу з коливаннями температури, кількості опадів та вологості повітря засвідчило невелику метеозалежність регенераційної спроможності вивчених видів. Дефіцит опадів у період з січня по вересень досягнув понад 170 мм порівняно з середньо-багаторічними даними. Наднормові вересневі дощі, сума яких на 47,6 мм перевищила середньо-багаторічні дані, не компенсували дефіцит вологи, який спостерігався у період активної вегетації. Адже

саме у вересні відбувається зумовлене генотипом поступове затухання регенераційних процесів більшості деревних і кущових рослин зони помірного клімату, зокрема представників роду *Amelanchier*, як сформована в процесі еволюції складова підготовки рослин до несприятливих умов зимівлі. Тому збільшення вологозабезпеченості не змогло перервати процес органічного затухання проявів їх життєдіяльності. Щодо середньомісячної температури впродовж вегетації спостерігали щомісячне перевищення середньо-багаторічних даних на 2,6–4,4°C. Однак незважаючи на водний дефіцит в умовах суттєвого перевищення середньомісячної температури повітря за показниками регенераційного коефіцієнта *A. ovalis*, як і *A. spicata*, виявились цілком придатними для вирощування в умовах Центрально-Придніпровської височинної області Подільсько-Придніпровського краю лісостепової зони України, в якій розташований НДП «Софіївка». Разом з тим, слід зазначити, що представники *A. spicata* характеризувалися більшою загальною регенераційною спроможністю впродовж сезону (за винятком другої декади липня) і, очевидно, витривалістю щодо коливань метеорологічних умов, ніж *A. ovalis*, що дає підстави погодитись із застереженнями [3] стосовно обережного впровадження *A. spicata* як потенційно інвазійного виду.

Висновки

Результати виконаних дослідів свідчать про вищу загальну посттравматичну регенераційну спроможність інтродукованого виду *A. spicata*, ніж європейського виду *A. ovalis* і необхідність продовження оцінювання інвазійних потенцій *A. spicata* на рівні з господарчо-цінними ознаками цього виду.

Схожість кривих календарних періодів зростання і спаду темпів та інтенсивності гоєння штучних поранень пагонів *A. spicata* і *A. ovalis* дають підстави припускати можливість

опосередкованого оцінювання їхніх регенераційних потенцій після інших віртуальних природних і штучних пошкоджень. Тому щеплення, живцювання, обрізування та інші технологічні операції, для успішного завершення наслідків яких необхідна регенераційна активність, краще планувати у строки, коли регенераційний коефіцієнт близький (або перевищує) 5,0 орк, тобто у строки, коли найшвидше і найякісніше відбувається посттравматичне гоєння.

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. Косенко И.С., Опалко А.И., Сергиенко Н.В. Посттравматическая регенерация у представителей рода *Corylus* L. // Ботанические сады в современном мире: теоретические и прикладные исследования: матер. Всерос. науч. конф. с междунар. участ., посвящ. 80-лет. со дня рожд. Л.Н. Андреева (5–7 июня 2011 г., Москва); ред. Александр Демидов. – М.: Тов. научных изданий КМК, 2011. – С. 347–350.
3. Куклина А.Г. Натурализация североамериканских видов ирги (*Amelanchier Medik.*) во вторичном ареале // Российский журнал биологических инвазий. – 2011. – №1. – С. 52–59.
4. Меженський В.М. Склад і використання колекції нетрадиційних плодових культур. 4. Ірга (*Amelanchier Medik.*) // Генетичні ресурси рослин. – 2007. – №4. – С. 51–56.
5. Опалко А.І., Андрієнко О.Д., Опалко О.А. Представники *Amelanchier Medik.* у НДП «Софіївка» НАН України // Інтродукція та досвід паркобудівництва в Степовій зоні України: міжнар. наук. конф., присвяч. 125-річчю дендропарку «Асканія Нова» (Асканія Нова, 23–25 травня 2012 р.): Вісті Біосферного заповідника «Асканія Нова» (Спецвипуск). – 2012. – Т. 14. – С. 243–247.
6. Опалко А.І. Селекція зерняткових культур // Селекція плодових і овочевих культур: підруч. / А.І. Опалко, Ф.О. Заплічко. – К.: Вища шк., 2000. – С. 345–385.
7. Опалко А.И., Опалко О.А. Проблема повышения антропоадаптивного потенциала культурных растений // Актуальные проблемы сохранения устойчивости живых систем: Мат. VIII Междунар. науч. экологической конф. (Белгород, 27–29 сентября 2004 г.). – Белгород: Изд-во БелГУ, 2004. – С. 152–153.
8. 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.
9. 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.
10. Campbell C.S., Wright W.A. Apomixis, hybridization, and taxonomic complexity in eastern North American *Amelanchier* (*Rosaceae*) // *Folia Geobotanica and Phytotaxonomica*. – 1996. – Vol. 31, №3. – P. 345–354.
11. Catalogue of Life: 3rd February 2012 // Catalogue by Royal Botanical Gardens Kew [Електронний ресурс]. – 2012. – Режим доступу: http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2012/search/all/key/Amelanchier/match/1_
12. 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.
13. Takhtajan A. L. Flowering plants [corr. 2nd ed.]. – N.Y.: Springer Science+Business Media, 2009. – 871 p.
14. The Plant List by the Royal Botanic Gardens Kew and Missouri Botanical [Електронний ресурс]. – 2010. – Режим доступу: http://www.theplantlist.org/tpl/search?q=Amelanchier_

OPALKO A.I., ANDRIYENKO O.D., OPALKO O.A.

National dendrological park «Sofiyivka» of NAS of Ukraine
Ukraine, 20300, Uman, Kyuyivska str., 12A, e-mail: opalko_a@ukr.net

POSTTRAUMATIC REGENERATIVE ABILITY OF THE *AMELANCHIER* MEDIK. GENUS REPRESENTATIVE

Aims. The posttraumatic regeneration ability of the *Amelanchier* Medik. genus representative after experimental injuring of one-year-old shoots (growth-increase of the previous season) is regarded as a component

of adaptive complex. In order to forecast the favorable periods dates for callusing, seasonal variations of the regeneration coefficient were compared. **Methods.** Variation of the regeneration coefficient was evaluated with respect to repair process efficiency of artificial incisions. **Results.** It was found that the general post-traumatic regenerative ability indirectly of sufficient adaptation of the studied species to seasonal variations, but the testifies regeneration effectiveness of *A. spicata* was higher than that of *A. ovalis*. **Conclusions.** It is supposed that according to regeneration coefficients the dates of the favorable periods for the vegetative propagation and working operations of attendance of shadberry plantations resulting in the injury of vegetative organs can be determined.

Key words: adaptive complex, callusing, incisions, regenerative potential, shadberry.

ПОЛИЩУК Л.В., ЛУКЬЯНЧУК В.В.

Институт микробиологии и вирусологии им. Д.Л. Заболотного НАН Украины, Украина, Д03680, Киев МСП, ул. Акад. Заболотного, 154, e-mail: LVPolishchuk@ukr.net

ПОИСК IN SILICO УАКТИНОМИЦЕТОВ ПАТТЕРНОВ, ГОМОЛОГИЧНЫХ LndJ-БЕЛКУ *STREPTOMYCES GLOBISPORUS* 1912

В настоящее время полностью определено нуклеотидное строение и организация более 2300 бактериальных хромосом и продолжаются работы над последовательностями еще 4000 хромосом. Для многих штаммов продуцентов антибиотиков полностью определено нуклеотидное строение кластеров генов, детерминирующих синтез антибиотиков: например, *Streptomyces kanamyceticus* ATCC12853 (канамицин), *S. antibioticus* Tu 6040 (симоциклинон), *Streptomyces* sp. JP95 (гризеородин), *S. fradia* Tu 2717 (урдамицин) и многие другие. Составлены базы данных об аминокислотном строении бактериальных протеинов, в которые включены последовательности более 50000 соединений, выполняющих различные функции в клетках микроорганизмов (например NCBI Reference Sequence

project). Специалистами разработано ряд компьютерных программ позволяющих изучить in silico информацию, собранную в таких базах [1]. Особый интерес представляет возможность анализа имеющейся в базах данных информации о нуклеотидном строении микробных ДНК для выявления распространения и гомологии генов устойчивости к антибиотикам. Такое изучение имеет как практическое значение, так и теоретический интерес [1, 2]. Это связано с распространением у патогенных и условно патогенных микроорганизмов устойчивости к этой группе лекарственных средств, с наличием у микроорганизмов криптологических кластеров генов биосинтеза антибиотиков и с выявлением существования ортологичных генов резистентности у различных микроорганизмов [2].

Материалы и методы

Проводился in silico анализ доступных Интернет баз данных сервера NCBI (Draft genomes, GenBank, EMBL, DDBJ, PDB и др.) с использованием доступных технических возможностей программы BLAST (Cobalt, Alignmet и др.). Поиск ортологов осуществлялся с помощью программы BLAST с установками по умолчанию. Критерием выбора последовательностей служила гомология с аминокислотной последовательностью LndJ-белка *S. globisporus* 1912 (ABB84178.1, GenBank). Было отобрано 100 позиций, степень идентичности которых

была выше 40 %. При анализе учитывалась так же степень подобия данных аминокислотных последовательностей. Как известно, существует возможность замен одной аминокислоты другой сходной по химическому строению без изменения их вторичной и третичной структуры и нарушения функционирования. Учет возможности прохождения консервативных замен аминокислот повышает степень подобия белковых паттернов на 15–20 %. В работе рассматривались в основном паттерны со степенью подобия указанному паттерну более 70 %.

Результаты и обсуждение

В настоящее время исследователи во многих лабораториях мира (США, Япония, Германия и Украина) уделяют большое внимание все-

стороннему изучению семейства ангуациклиновых антибиотиков ландомицинов. Такое внимание к данной группе антибиотиков связано со

значительной биоцидной активностью некоторых из них. Например установлено, что ландомицины А и Е имеют противораковое и антибактериальное действие. Доказана антиканцерная активность ландомицина Е на 50 линиях опухолевых клеток. На данный момент определен путь синтеза антибиотика ландомицина Е клетками *S. globisporus* 1912; установлены ферменты, обеспечивающие прохождение биосинтетических процессов; выявлено участие регуляторных веществ и изучаются их химические формулы. Установлено строение кластера генов детерминирующих производство ландомицина Е (Lnd-кластер) *S. globisporus* 1912 (34 тпн). Выявлено, что Lnd-кластер образуют более 30 генов, которые выполняют различные функции: регуляторные гены, гены кодирующие ферменты, принимающие участие в биосинтезе антибиотика и гены резистентности к нему. Показано наличие в Lnd-кластере 2 генов (LndJ-гена, 1706 пн и LndW-гена, 981 пн) детерминирующих устойчивость к синтезируемому антибиотику ландомицину Е (DQ275159 и EU128492, GenBank). Кодируемые ими LndJ и LndW белки обеспечивают активный транспорт собственного антибиотика из синтезирующей его клетки (ABB84178 и ABV56007, GenBank). In silico анализ аминокислотного строения LndJ-полипептида *S. globisporus* 1912 показал наличие 14 связывающих элементов и установлено гомологию с протон зависимыми транспортными белками семейства DHA2 суперсемейства основных переносчиков (Major Facilitator Superfamily). Изучение аминокислотной последовательности LndW-белка, кодированного LndW-геном *S. globisporus* 1912 было показано наличие домена АТФ-азы транспортера ABC-типа, обеспечивающего устойчивость к антибиотику.

В литературных источниках сообщается о синтезе различных ландомицинов несколькими культурами – *S. globisporus* 1912, *S. cyanogenus* 136 (исходными штаммами и их производными вариантами) и некультивируемым стрептомицетом, выделенным из почвы Аризоны, США. У данных стрептомицетов определено строение кластера генов синтеза антибиотиков и установлены нуклеотидные последовательности всех кластеров генов.

Особый интерес представляет наличие наибольшей степени идентичности (92 %) из выявленных in silico анализом гомологий ORF29-белка (520 ак - AEM44238, GenBank), микроорганизма с неопределенной таксономической принадлежностью аминокислотному

строению LndJ-белка *S. globisporus* 1912. Степень подобия данных паттернов составляла 95 %. Фрагменты хромосомной ДНК некультивируемого микроорганизма были клонированы в космиде pWEB и один из клонов (AZ97) содержал в составе гибридной конструкции cosAZ97 кластер генов синтеза ландомицина Е – в том числе и ogf29-ген. Указанный белок ORF29 является ортологом LndJ-белка – он функционирует как трансмембранный антипортер антибиотика ландомицина Е.

Как известно, антрациклиновый антибиотик ландомицин А – это основной компонент комплекса антибиотиков, синтезированных штаммом *S. cyanogenus* S136. В настоящее время полностью определено строение lan-кластера генов, детерминирующего синтез антибиотика ландомицина А у *S. cyanogenus* S136 (AF080235, GenBank). Данный кластер включает 33 гена. В том числе и lanJ-ген (1553 пн), который детерминирует LanJ-белок, обеспечивающий устойчивость к собственным антибиотикам (AAD13557, GenBank). Аминокислотная последовательность LanJ-паттерна идентична на 74 % последовательности LndJ-белка *S. globisporus* 1912. Данный паттерн имел степень подобия 82 %. Как установлено, LanJ-белок так же осуществляет трансмембранный транспорт антибиотиков ландомицинов.

In silico анализ Интернет баз данных позволил определить наличие еще у многих (кроме представленных выше) микроорганизмов паттернов для первичного строения которых выявлена значительная степень гомологии LanJ-белку. Однако показатель их идентичности не превышает 57 %. При анализе учитывалась так же степень подобия данных аминокислотных последовательностей. Среди рассматриваемых микроорганизмов (84 культуры), имеющих гомологичные паттерны, преобладают представители типа *Actinobacteria*. Их обнаружено 82 вида, принадлежащих к 10 семействам актиномицетов. Большинство из них – представители семейства *Streptomycetaceae* – 45 культур. Выявлено и 2 вида рода *Pseudomonas* (*Pseudomonas dioxanivorans* CB1190 и *Pseudomonas* sp. GM84), принадлежащие к типу *Proteobacteria*. Паттерн штамма *Pseudomonas* sp. GM84 был идентичен на 42 % (степень подобия 64 %) по аминокислотному строению LndJ-белку *S. globisporus* 1912, в то время как у *Pseudomonas dioxanivorans* CB1190 был выявлен белок с большей гомологией (50 % / 70 %) (ZP_10602926 и AEA24819, соответственно). Оба белка являются ортологичными – они выполняют функцию трансмем-

бранных антипортеров и относятся к MFS.

Большинство микроорганизмов, имеющих паттерны с идентичностью более 50 % – стрептомицеты (27 штаммов). Исключение – штамм *Micromonospora* sp. Tu 6368, у которого паттерн (ACP19369) идентичен на 54 %. Паттерны с высокой степенью гомологии выявлены только у ряда штаммов микроорганизмов продуцентов ангуациклиновых антибиотиков: *S. cyanogenus* S136 (ландомицин А), *Micromonospora* sp. Tu 6368 (саквоямицин), *S. fradiae* Tu2712 (урдамицин) и *S. cattleya* DSM 46488 (овьедомицин). У указанных 28 штаммов актиномицетов выявленные паттерны детерминируют трансмембранные антипортеры, относящиеся к семейству DHA2 суперсемейства основных переносчиков (MFS).

Широко известно наличие генов устойчи-

вости к антибиотикам у микроорганизмов, которые не продуцируют их. Высказываются предположения о приобретении указанных генов вследствие горизонтального их переноса от штаммов продуцентов. Среди выявленных культур микроорганизмов имеющих LndJ-ортологичные полипептиды многие не продуцируют антибиотики или же продуцируют антибиотики другой химической природы. Синтезируемые ими метаболиты принадлежат к различным классам химических соединений и демонстрируют биоцидную активность относительно разных организмов: бактерий, грибов, гельминтов и раковых клеток человека.

На данный момент выявлено более 10 кластеров генов синтеза ангуациклиновых антибиотиков (табл.).

Таблица. Трансмембранные антипортеры биосинтетических кластеров продуцентов ангуациклинов

Штаммы продуценты антибиотиков	Паттерны транспортных белков			
	№ паттерна, GenBank	Обозначение белка	Молекулярный размер, ак	Подобие LndJ-паттерну, %
<i>S. globisporus</i> 1912 (ландомицин Е)	ABB84178	LndJ	521	100 фрагменты
	ABV56007	LndW	601	
<i>S. fradiae</i> Tu2712 (урдамицин)	AAF00219	UrdJ	525	71
	AAF00207	UrdJ2	417	42
<i>S. antibioticus</i> Tu6040 (симоциклон)	AAK06799	SimEx	534	62 фрагменты
	AEU17895	SimEx2	412	
<i>Micromonospora</i> sp. Tu 6368 (саквоямицин)	ACP19362	SaqJ	469	48
	ACP19369	SaqJ1	518	74
<i>S. cyanogenus</i> S136 (ландомицин А)	AAD13557	LanJ	517	95
<i>S. cattleya</i> DSM 46488 (овьедомицин),	YP_004913786	OvmE	421	75
<i>S. murayamaensis</i> (кинамицин),	AA065354	KinJ	426	56
<i>S. aureofaciens</i> CCM 3239 (аурицин)	AAX57197	Aur1J	491	44
<i>Streptomyces</i> sp. SCC 2136 (Sch 47554),	CAH10123	SCC	527	61
<i>Streptomyces</i> sp. WP 4669 (PD116740)	AA065368	Pg2J	368	45
<i>Streptomyces</i> sp. PGA64 (PGA64)	AAK57531	PagJ	488	46
Некультивируемая бактерия	AEM44238	ORF29	520	95

Показано наличие 2 генов устойчивости только у четырех из них: *S. fradiae* Tu2712 (urdJ, urdJ2), *S. antibioticus* Tu6040 (simEx, simEx2), *S. globisporus* 1912 (lndJ, lndW) и *Micromonospora* sp. Tu 6368 (saqJ, saqJ1). Указанные гены детерминируют трансмембранные белки, принадле-

жащие (за исключением LndW и simEx2) к одному суперсемейству переносчиков – MFS, в то время как LndW – это антипортер ABC-семейства, а SimEx2 (AEU17895) – Na/H антипортер семейства переносчиков метаболитов KefB. Биосинтетические кластеры стрептомице-

тов *S. cattleya* DSM 46488 (овьедомицин), *S. murayamaensis* (кинамицин), *S. aureofaciens* CCM 3239 (аурицин), *Streptomyces* sp. PGA64 (PGA64), *Streptomyces* sp. SCC 2136 (Sch 47554), *Streptomyces* sp. WP 4669 (PD116740) и *S. cyanogenus* S136 (ландомицин А) содержат по одному гену, детерминирующему трансмембранные белки, также принадлежащие к семейству MFS. Однако, необходимо иметь ввиду, что продолжают работы по изучению строения и организации ряда кластеров генов: например *Streptomyces* sp. WP 4669 (FJ670504), *S. cattleya* DSM 46488 (AJ632203) и др.

Дополнительный анализ in silico Интернет баз данных выявил ряд ортологичных паттернов, уровень идентичности которых ниже 45 %: AAF00207 (UrdJ2), ACP19369 (SaqJ1), AA065368 (Pg2J), SAN10123 (SCC), AAX57197 (Aur1J), AAK57531 (PgaJ), AAK06799 (SimEx), AEU17895 (SimEx2), AA065354 (KinJ), ACP19362 (SaqJ), YP_004913786 (OvmE). Наиболее гомологичными были паттерны SAN10123 (SCC) и AAK06799 (SimEx). Все вышеуказанные белки относятся к суперсемейству основных трансмембранных переносчиков (MFS).

Проведенное определение гомологии нуклеотидных последовательностей LndJ, LndW- и simEx2-генов показало только наличие у них нескольких коротких фрагментов (менее 40 пн),

Выводы

Выявлено широкое распространение среди микроорганизмов (особенно актиномицетов) антипортеров с различной степенью подобия аминокислотному строению LndJ-белка *S.*

гомологичных LndJ-гену со степенью подобия выше 40 %. Сравнение аминокислотного строения 2 последних паттернов LndW- и simEx2 (ABV56007 и AEU17895) не выявил даже незначительного их взаимного подобия.

Таким образом, проведенный in silico анализ Интернет баз данных выявил у множества микроорганизмов разных таксономических групп наличие паттернов, гомологичных аминокислотной последовательности LndJ антипортера *S. globisporus* 1912. Однако, необходимо отметить, что подавляющее большинство микроорганизмов (97,6 %) – это представители типа *Actinobacteria*.

Наличие ортологов LndJ паттерна с различной степенью гомологии (от 42 % до 95 %) было показано у 11 штаммов-продуцентов ангуациклиновых антибиотиков. У двух из них было выявлено по 2 паттерна LndJ-паралога (*S. fradiae* 2717 и *S. Micromonospora* sp. Tu6368). В то время, как у *S. antibioticus* Tu6040, так и у *S. globisporus* 1912 из 2 антипортеров только один – это ортолог LndJ паттерна.

Интересным, есть и выявленное наличие полной идентичности только 6,3 % аминокислотной последовательности LndJ-белка (521 ак) и всех рассматриваемых паттернов. Это свидетельствует о возможности существования у этих белков гомологичных центров активности.

globisporus 1912 как защита от собственного антибиотика, так и у не продуцирующих никаких бицидов.

Литература

1. Choi W.S., Wu X., Choeng Y.H. et al. Genetic organization of the putative salbostatin biosynthetic gene cluster including the 2-epi-5-epi-valiolone synthase gene in *Streptomyces albus* ATCC 21838 // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2008. – Vol. 80, №4. – P. 637–645.
2. Saier M.H. Jr. Computer-aided analyses of transport protein sequences: gleaned evidence concerning function, structure, biogenesis, and evolution // *Microbiol. Rev.* – 1994. – Vol. 58, №1. – P. 71–93.

POLISHCHUK L., LUKYANCHUK V.

*Zabolotny institute of Microbiology and Virology of the NAS of Ukraine
Ukraine, 03680, Kyiv, Acad. Zabolotnogo str., 154, e-mail: LVPolishchuk@ukr.net*

SEARCH IN SILICO FOR ACTINOMYCETES PATTERNS WHICH ARE HOMOLOGOUS TO LndJ-PROTEIN OF *STREPTOMYCES GLOBISPORUS* 1912

The *aim* – to identify distribution of LndJ-like proteins among microorganisms and homology of their patterns. *Method.* Available Internet databases of information about primary structure of microbial DNAs and proteins on server NCBI were used. In silico analysis of Internet bases was done using available technical possibilities of program BLAST. The criterion for patterns selection was amino acid sequence of LndJ-protein of *Streptomyces globisporus* 1912. *Results.* Wide spreading of LndJ-homologous patterns among

microorganisms of different taxonomic groups was detected, but the majority (97,6 %) is representatives of type *Actinobacteria*. The presence of LndJ-pattern orthologs with varying degree of homology (42 % to 95 %) was shown in 11 anguacyclines producing strains. Two of them each had two patterns for LndJ-paralogs (*S. fradiae* 2717 and *Micromonospora* sp. Tu6368). Strains *S. antibioticus* Tu6040 and *S. globisporus* 1912 each had (from 2 antiporters) only one ortholog of LndJ pattern. **Conclusion.** Antiporters with varying degrees of similarity to LndJ-protein are widespread among microorganisms as defense against their own antibiotics well as in ones that do not produce any biocides.

Key words: pattern, amino acid structure, homology, antiporter, resistance.

ПОЛЯКОВА Л.В., ГАМАЮНОВА С.Г., ЖУРОВА П.Т.

Украинский научно исследовательский институт лесного хозяйства и агролесомелиорации
Украина, 61034, г. Харьков, ул. Пушкинская, 86, e-mail: polyakova_lv@mail.ru

БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МНОГОВЕКОВОГО НАСАЖДЕНИЯ И 55-ЛЕТНЕЙ КУЛЬТУРЫ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЛИСТОГРЫЗУЩИМ НАСЕКОМЫМ

Деграция насаждений дуба черешчатого, отчетливо проявляющаяся не только в перестойных, но и относительно молодых насаждениях, наблюдается на территориях многих европейских стран. К возможным причинам этого явления относятся как климатические изменения, отмечаемые в последние десятилетия, так и сопровождающее их изменение активности филофагов, как по видовому разнообразию, так и по численности [3]. Несмотря на то, что во многих случаях усыхание охватывает, прежде всего, старые и перестойные насаждения дуба, нами встречена 55-летняя культура этого вида, в которой отмечается около 15–16 % деревьев,

крона которых усыхает на 50–80 %. Интерес к этой культуре вызван тем, что она создана из семян репродукции произрастающего рядом многовекового (200–300 лет) насаждения, которое составляет основу национального природного парка «Святые горы». Задача исследования свелась к сравнительному биохимическому анализу листьев деревьев усыхающей 55-летней культуры и многовековых деревьев, не имеющих признаков усыхания кроны. Деревья обоих насаждений изучали также по степени повреждения листьев кроны доминирующими в насаждении видами филофагов.

Материалы и методы

Листья для анализа собирали с нижних побегов южной экспозиции. С каждого дерева брали по 6 листьев для индивидуального анализа. После сбора образцов листья фиксировали в кипящем этаноле, высушивали до воздушно-сухого состояния. Содержание белка (Б) опреде-

ляли по [2]: Содержание флавонолов (ФЛ) определяли по реакции с AlCl₃, 415 нм [1]; конденсированные танины (КТ) определяли по реакции с ванилиновым реактивом [6], гидролизуемые танины (ГТ) определяли по реакции с ферроцианид комплексом [4].

Результаты и обсуждение

Энтомологический анализ побегов деревьев, выполненный в течение первых 2 дней после сбора образцов, позволил установить, что видовой состав листогрызущих насекомых практически одинаков в кроне многовековых деревьев и 55-летней культуры. Основные виды вредителей: дубовый блошак (*Altica quercetorum*

Foudr.(Salicete Wsa), пяденицы ранневесеннего комплекса – пяденица обдирало обычная (*Eranis defoliaria*), доминант, и пяденица зимняя (*Operoptera brumata* L.), субдоминант. Распространение доминирующих летом 2012 г. вредителей и инфекции дано в табл. 1.

Таблица 1. Степень повреждения листьев дуба черешчатого в насаждениях разного возраста (%)

Возраст насаждения	Дубовый блошак	Комплекс пядениц	Мучнистая роса
200–300 лет	6.56±1.26**	0.87±0.42**	2.05±1.11*
Культура 55 лет	13.46±2.18	5.37±1.24	4.63±2.90

Данные таблицы 1 показывают, что стабилизированные в данной среде многовековые деревья характеризуются в 2 раза более низким уровнем расселения в кроне дубового блошака, практически в 6 раз более низкой активностью

комплекса пядениц. Они также в 2 раза слабее поражены инфекцией мучнистой росы.

Биохимический анализ позволил выявить некоторые отличия между рассматриваемыми возрастными группами деревьев (табл. 2).

Таблица 2. Биохимическая характеристика листьев деревьев 300- и 55-летнего возраста состоянием на 26.06.2012 г. (% к сухой массе, под чертой CV %)

Возраст деревьев	Б	ФЛ	КТ	ПА (связан. форма)	ГТ
200–300 лет (16 особей)	<u>9.83±0.15</u> 11.4	<u>0.54±0.03</u> 44	<u>0.36±0.027</u> 84	<u>0.123±0.007</u> 47.1	<u>1.14±0.07</u> 48.9
55 лет (культура, 24 особи)	<u>9.3±0.12</u> 11.4	<u>0.49±0.024</u> 49.3	<u>0.144±0.006</u> 41.6	<u>0.063±0.0016</u> 25.3	<u>1.41±0.07</u> 49.0
T st	2.95*	1.5	2.0*	8.5**	3.15*
Здоровые (11 деревьев) d = 17.7	<u>9.1±0.16</u> 10.9	<u>0.51±0.039</u> 43	<u>0.12±0.0058</u> 32.5	<u>0.058±0.002</u> 24.1	<u>1.50±0.13</u> 55.7
Усыхающие (13 деревьев) d = 18.2	<u>9.54±0.17</u> 11.6	<u>0.47±0.036</u> 55.3	<u>0.165±0.009</u> 40.6	<u>0.067±0.0023</u> 24.9	<u>1.34±0.077</u> 41.8
T st	2.1*	0.8	5.0**	3.0*	1.05

Примечания: Б – общее содержание белка; ФЛ – флавонол-гликозиды (доминирует кверцетрин); КТ – конденсированные танины (свободная форма); ПА – связанная форма КТ; ГТ – гидролизуемые танины. * ** P < 0.05; 0.01.

Данные табл. 2 показывают достоверные отличия между культурой и многовековыми деревьями почти по всем биохимическим признакам (за исключением группы ФЛ). Тенденции таковы, что содержание Б в листьях молодой культуры на 6% ниже, чем в листьях многовековых деревьев. Соответственно в 2.5–2 раза ниже содержание КТ и связанной формы ПА. Содержание ГТ в листьях культуры, напротив, возрастает на 24 %. Достоверные различия отмечены и между группами здоровых и усыхающих деревьев культуры. Количество Б в листьях усы-

хающих деревьев оказалось на 5 % выше, чем в листьях здоровых, более высоким было и содержание конденсированных танинов, но пониженным содержание гидролизуемых танинов (ГТ).

Индивидуальный анализ деревьев позволил рассчитать коэффициенты корреляции между некоторыми биохимическими признаками и степенью расселения в кроне двух доминирующих видов насекомых – дубового блошака и комплекса пядениц (табл. 3).

Таблица 3. Взаимосвязь некоторых биохимических показателей листьев дуба черешчатого с активностью доминирующих вредителей. Коэффициенты корреляции Пирсона (r)

Вредитель	Б	ГТ	КТ	ПА
Дубовый блошак 200–300лет – (16 дер.)	0.041	-0.080	-0.234*	-0.171
Дубовый блошак Культура (24 дерева)	0.150	-0.068	0.214	0.174
Комплекс пядениц – 200–300 лет	-0.435*	0.284*	0.048	-0.220
Комплекс пядениц Культура	0.077	0.213*	-0.122	-0.163

Обозначения те же, что в т.2. * – P < 0.05

Данные табл. 3 показывают, что, несмотря на значительно менее сильное повреждение листьев обоими видами вредителей, наиболее значимые достоверные коэффициенты корреляции отмечаются для многовековых деревьев. Можно

отметить достаточно четкую негативную корреляцию между уровнем конденсированных танинов в кронах многовековых деревьев и активностью вредителя – дубовый блошак, а также активностью комплекса пядениц и содержанием

Б.. Положительная связь отмечена в обоих насаждениях между активностью комплекса пядениц и уровнем гидролизуемых танинов.

Дополнительная выборка деревьев с доминированием в кроне одного из двух видов на-

секомых, подтвердила данные корреляционного анализа. Выборка деревьев в молодой культуре выполнена для двух лет анализа – 2011 и 2012 г.г. (табл. 4, 5).

Таблица 4. Характер повреждения листогрызущими насекомыми деревьев 54-летней культуры (30.06.2011 г.) дуба черешчатого и их основные биохимические показатели (% сухого веса, под чертой CV %)

Группа деревьев	Общее повреждение, %	Б %	ГТ %
Доминирует пяденица (15 деревьев).	10.4 % – дуб.блошак; 4.3 % – пяденица, ед.орехотворка монет	$7.17 \pm 0.09^{**}$ 5.02 %	1.69 ± 0.08 19.5 %
Доминирует дуб. блошак (15 деревьев)	19.93 % – д.блошак; 6.4 % – пяденица ед.широкоминир.моль, листовертка	$7.70 \pm 0.14^{**}$ 7.0 %	1.59 ± 0.11 27.5 %
% соотношения групп	–	93.1 %	106.3 %

Таблица 5. Биохимические показатели деревьев разных возрастных групп с доминированием в кроне разных видов насекомых (07.07.2012 г.) (% к сухому весу)

Группа деревьев	Б	ГТ
200–300 л, доминирует дубовый.блошак (6 деревьев), повреждение – 8.8 %	10.42 ± 0.4	0.95 ± 0.137
200–300 л, доминирует комплекс пядениц (3 дерева), повреждение – 3 %	9.00 ± 0.38*	1.89 ± 0.12 **
55 лет, доминирует дубовый блошак (7 деревьев); повреждение 22.8 %	9.74 ± 0.25	1.08 ± 0.13
55 лет, доминирует комплекс пядениц (6 деревьев), повреждение – 20 %	9.1 ± 0.44	2.06 ± 0.127**

Примечания: * P < 0.05. Б – белок; ГТ – гидролизуемые танины.

Данные изучения культуры дуба в 2011 г. (табл. 4) показали, что в листьях деревьев с доминированием в кроне комплекса пядениц синтезируется на 7 % меньше белка, но на 6 % больше ГТ. Противоположные пропорции этих компонентов характерны для деревьев с доминированием в кроне дубового блошака. В анализах 2012 г. эти особенности подтвердились (табл. 5), причем как для многовековых деревьев так и деревьев культуры. Это позволяет сказать, что характер корреляций между уровнем накопления разных групп компонентов и разными видами листогрызущих насекомых не является случайным, а отражают особенности разных видов насекомых в выборе для расселения дерева-хозяина с определенными биохимическими показателями, то есть определенные генотипы.

Многовековые деревья в данном исследовании представляют интерес с одной стороны

отсутствием усыхания большого количества ветвей в кроне, а также значительно меньшей активностью вредителей в кроне этих деревьев, произрастающих рядом с 55-летней культурой. При этом среди многовековых деревьев можно выбрать особи с практически единичным присутствием отдельных видов насекомых в кроне, то есть проявляющих повышенную устойчивость к повреждению филлофагами в данной среде обитания. Мы сравнили три группы деревьев, проанализированных на данной территории в 2012 г. Это – многовековые деревья (16 особей), группа наиболее устойчивых среди них (6 деревьев) и группа здоровых, без признаков усыхания, деревьев 55-летней культуры (11 особей). Чтобы сравнение было многомерным и был учтен диапазон изменчивости признаков в каждой группе, использовали анализ соответствий (рис.).

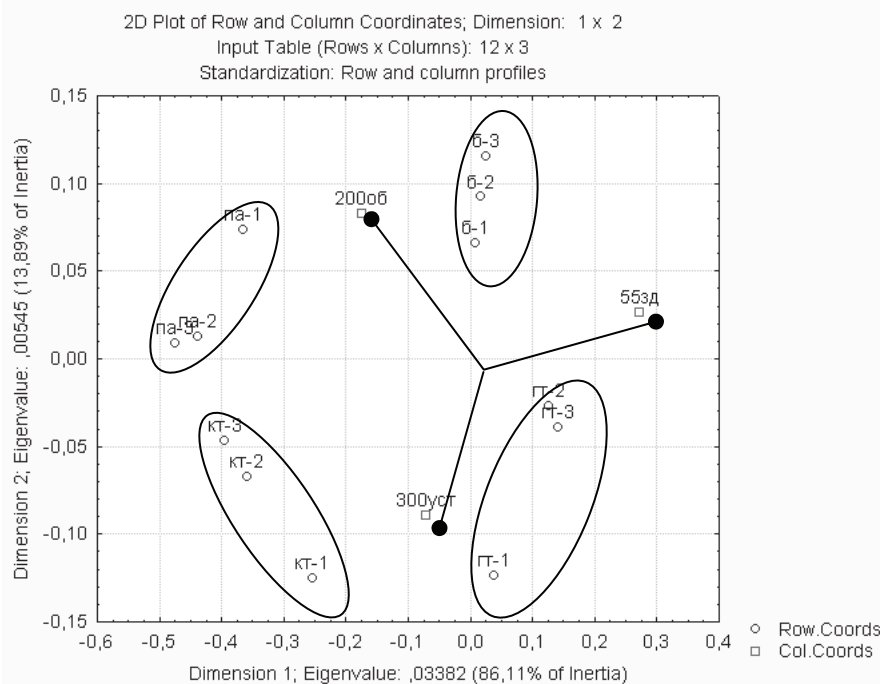


Рис. Анализ соответствий трех групп деревьев по биохимическим признакам. Обозначения: 200 об. – группа многовековых деревьев (16 особей); 300 уст. – группа из 6-ти многовековых деревьев с минимальными признаками повреждения насекомыми и болезнями; 55 зд – группа из 11 деревьев 55-летней культуры, не имеющих признаков усыхания кроны; Компоненты: б-1 (содержание белка в пределах $(\bar{x} - 1\sigma)$); б-2 – \bar{x} ; б-3 – $(\bar{x} + 1\sigma)$; гт-1, гт-2, гт-3 гидролизуемые танины; кт-1, 2, 3 – конденсированные танины свободная форма; па-1, 2, 3 – конденсированные танины связанная форма. От точки пересечения канонических осей проведены векторы специализации каждой группы

Векторы специализации показали, что все три группы деревьев располагаются в разных участках поля. В зоне влияния 55-летней культуры можно отметить лишь повышенные значения признака содержания гидролизуемых танинов. Содержание Б занимает промежуточное положение со сдвигом общего повышенного уровня значений в сторону многовекового насаждения (соответствует данным т.2). Наиболее отчетливое отличие многовековых насаждений и 55-летней культуры относится к уровню содержания в листьях конденсированных танинов, как в свободной (КТ), так и связанной (ПА) формах. Повышенный уровень содержания этих групп компонентов является характерной особенностью только многовековых деревьев, причем свободная форма КТ может быть отнесена к

Выводы

Полученные нами данные показывают, что достоверные биохимические отличия по большинству признаков – Б, ФЛ, ГТ показывают лишь 6–10 %-ный уровень отличий. Только по содержанию конденсированных танинов в сво-

особенностям наиболее устойчивой группы среди многовековых деревьев

Данное сопоставление показывает особую роль конденсированных танинов в устойчивости деревьев дуба черешчатого к филофагам. Согласно литературным данным наибольшее значение для уровня повреждения деревьев вредителями имеет содержание ГТ или КТ в листьях во время выхода личинок вредителей и их кормления. Отмечена негативная корреляция выживания и веса личинок как с уровнем содержания ГТ так и КТ. при изучении развития личинок *Epirrita autumnata* на листьях березы пушистой [7] Однако в листьях дуба наиболее сильное негативное воздействие на развитие личинок оказывают именно конденсированные танины [5].

бодной (КТ) и связанной (ПА) форме уровень отличий между многовековыми деревьями и 55-летней культурой достигает 250–200 % в пользу многовековых деревьев. Вполне вероятно, что значительно более высокий уровень конденса-

рованных танинов для доминирующих в 2011–12 г.г. насекомых в насаждении 200–300-летнего возраста мог оказаться одним из основных факторов, снижающих численность выживаемых личинок двух доминирующих видов насекомых. В листьях молодой культуры, напротив, сложи-

лись благоприятные условия для их выживания и активного расселения насекомых в кроне, вызывая значительное объедание листьев и впоследствии усыхание части деревьев данной культуры.

Литература

1. Беликов В.В. Оценка содержания флавононол-производных в плодах *Silybum marianum* (L.) Gaerth. // Раст.рес. – 1985. – В. 3. – С. 350–358.
2. Бузун Г.А., Джемухадзе К.М., Милешко Л.Ф. Определение белка в растениях с помощью амидо-черного // Физиол.раст. – 1982. – Т.29. – С. 350–358.
3. Селочник Н.Н. Факторы деградации лесных экосистем // Лесоведение. – 2008. – №5. – С. 52–60.
4. Butler L., Bandyopahyay R., Mughogho L. Polyphenol concentration in grain, leaf and callus tissues of mold-susceptible and mold-resistant *Sorghum* cultivars // J.Agric.Food Chem. – 1986. – V. 34. – P. 425–429.
5. Covelo F., Gallardo A. Temporal variation in total leaf phenolics concentration of *Quercus robur* in forested and harvested stands in northern Spain // Can.J.Bot. – 2001. – V. 79, N 11. – P. 1262–1269.
6. Julkunen-Tiitto R. Phenolic components in leaves of northern willows methods for the analysis of certain phenolics // J. Agric. Food Chem. – 1985. – V. 33. – P. 213–217.
7. Kause A., Ossypov V., Naukioja E., Lempa K., Hanhimaki S., Ossypova S. Multiplicity of biochemical factors determining quality of growing birch leaves // Oecologia. – 1999. – V. 120. – P. 102–112.

POLYAKOVA L.V., GAMAYUNOVA S.G., JUROVA P.T.

*Ukrainian institute of Forestry and Forest melioration named after G.M. Vysotsky
Ukraine, 61024, Kharkov, Pushkinskaja, 86, e-mail: polyakova_lv@mail.ru*

BIOCHEMICAL PECULIARITIES OF COMMON OAK OLD FOREST AND 55-YEAR OLD CULTURE TREES IN CONNECTION WITH THEIR SUITABILITY TO AN HERBIVOROUS INSECTS

Aims. Decline of common oak plantations in last 40–50 decades is a serious problem in many countries. In eastern part of Ukraine there were observed two neighboring common oak plantations: 200–300-year old health trees and 55-year old culture with 15–16 % of decaying trees. **Methods.** Biochemical peculiarities of these plantations were studied for several leaf traits: common protein content (Pt), condensed tannins (CT) and hydrolysable ones (HT). The degree of herbivore insects' activity was studied also. **Results.** It was found the much more intensive damage in 55-year old culture by two dominance species of herbivores – *Altica quercetorum* and *Erranis* sp. The specialist (*A. quercetorum*) prefer trees with high content of Pt in leaves and low content of HT. The generalist (*E. sp.*) prefer opposite proportion of these groups of compounds in leaves. The most stable trees were found in 200–300-year old plantation. **Conclusions.** The most special peculiarity concerned the content of CT. Their content in leaves of old plantation trees was 200–250 % higher compared to 55-year old culture.

Key words: old forest, *Quercus robur* L., biochemical peculiarities, herbivorous insects.

**САВКИН Н.Л., КОВТУН Н.В., ШЕЛИХОВ П.В., МАРУХА Н.Н., ПАВЛОВА М.В.,
ПОНОМАРЕВА К.В.**

*Луганский национальный аграрный университет
Украина, 91008, г. Луганск 8, ЛНАУ, e-mail: rector @ lnau.lg.ua*

ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ГЕНОТИПОВ СОРТОВ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ, ПРЕДОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ВЕЛИЧИНУ ПОКАЗАТЕЛЯ ЗИМОСТОЙКОСТИ

На фоне общего состояния аграрного комплекса Украины проблема обеспечения населения одним из основных продуктов питания хле-

бом – не вызывает сомнений и актуальна. Одним из наиболее доступных путей увеличения производства зерна озимой пшеницы является

использование в технологии ее производства регуляторов роста растений (Р.Р.Р.) с учетом реакции генотипов на каждый внедряемый препарат. Изучение и применение различных рост активизирующих препаратов и приемов на сельскохозяйственных культурах уходит в XVII–XVIII века. С развитием научно-технического прогресса появились целый ряд Р.Р.Р. различной природы, их воздействия на рост и развитие растительных организмов. [1, 3, 5]. В условиях Степи Украины одна из основных причин нестабильности получения урожая озимой пшеницы –

Материалы и методы

В изучение были отобраны два сорта различных агроэкологических центров различающиеся по уровню гомеостатичности и генотипам: Луга Вита и Августа. Опыт был заложен в конкурсном сортоиспытании по методике Госкомиссии по сортоиспытанию [6]. Учётная площадь делянки 33 м², повторность 3^x кратная. Размещение делянок рендомизированное. Срок сева предельно поздний – 30 октября. Предшественник черный пар. Технология выращивания общепринятая для условий Юго-востока степи Украины. Сев выполнялся сеялкой СКС 6–10. Норма высева 5 млн.шт./га всхожих семян. Изу-

Результаты

Результаты наших исследований за 3 года проведения эксперимента приведены в таблице.

Прежде всего следует отметить тот факт, что генотипы изучаемых сортов отличаются по величине показателя зимостойкости и существенной разнице по их реакции на совокупность погодных факторов. В данном случае генотип сорт Августа обладает более низким показателем зимостойкости. Так же анализ полученных данных показал, что изучаемые препараты обладают специфичностью реакции на генотипы сортов при конкретных комплексах погодных факторов. Прежде всего следует отметить тот факт, что генотипы изучаемых сортов отличаются по величине показателя зимостойкости и существенной разнице по их реакции на совокупность погодных факторов. В данном случае генотип сорт Августа обладает более низким показателем зимостойкости. Так же анализ полученных данных показал, что изучаемые препараты обладают специфичностью реакции на генотипы сортов при конкретных комплексах погодных факторов.

низкий показатель зимостойкости внедряемых в производство сортов. Как указывают результаты исследований ученых и практиков, различные Р.Р.Р. оказывали положительное влияние на величину и качество получаемой продукции. [4, 7, 8].

Целью наших исследований было определить реакцию генотипов сортов мягкой озимой пшеницы различных агроэкологических групп и разных селекционных центров на применение различных Р.Р.Р. обуславливающих величину показателя зимостойкости.

чалось 5 вариантов с применением Р.Р.Р.: Биогумус, Вымпел, Вымпел К, Оракул и Вымпел К + Оракул, контроль (без обработки семян Р.Р.Р.). Семена сортов озимой пшеницы обрабатывались Р.Р.Р. непосредственно перед посевом. На 1^m и 3^m повторениях с торцовых сторон делянок отбивались пробные делянки для учёта пораженных растений болезнями, учёта всхожести, перезимовки и элементов структуры урожая. Уборка производилась комбайном Сампо 130. Урожай приводился к стандартной влажности. Математическая обработка данных методом дисперсионного анализа по Доспехову [2].

Так, показатель гибели растений на контроле за зимний период вегетации 2010–2012 годы указывает на то, что совокупность погодных факторов зимы урожая 2010 года были самыми неблагоприятными. Однако, и средний показатель эффективности применения регуляторов роста растений по сортам эксперимента составил 23,8 и 21,9 % . В последующие 2 года исследований, судя по показателю гибели растений на контроле сортов, совокупность погодных факторов были более благоприятными и практически не имели существенных различий. Средний показатель эффективности применения Р.Р.Р. по вариантам эксперимента за 2011 год составил 29,7 % у сорта Луга Вита и 21,7 % у сорта Августа. Данный факт указывает на достаточно высокий уровень адаптационной способности генотипа сорта Луга Вита. Практически аналогичная тенденция отмечается и при анализе данных урожая 2012 года. Так, средний показатель эффективности применения Р.Р.Р. по вариантам эксперимента за 2012 год составил 28,3 % у сорта Луга Вита и 20,7 % у сорта Августа.

Таблица. Показатели гибели растений различных сортов мягкой озимой пшеницы за зимний период вегетации (П.О.В.–В.В.В.) в зависимости от Р.Р.Р. (Урожай 2010–2012 г.)

Сорт	№ Варианта	Вариант	% растений, выпавших за зиму				К ста- бильно- сти	Эффектив- ность пре- парата, % к контролю
			2010	2011	2012	X за 3 года		
Луга Вита	1	Вымпел К+Оракул	7,5	6,6	6,7	6,9	0,13	41,0
	2	Вымпел К	8,0	7,0	7,2	7,4	0,14	36,7
	3	Вымпел	9,2	8,1	8,2	8,5	0,13	27,4
	4	Оракул	11,3	6,8	7,3	8,5	0,53	27,4
	5	Биогумус	11,9	10,7	10,9	11,2	0,11	4,3
	6	Контроль	12,6	11,1	11,3	11,7	0,13	–
		эХ-по препаратам	9,6	7,8	8,1	8,5	0,21	–
Августа	1	Вымпел К+Оракул	10,9	9,7	9,9	10,2	0,12	34,2
	2	Вымпел К	11,7	10,4	10,6	10,9	0,12	29,7
	3	Вымпел	13,6	12,1	12,3	12,7	0,12	18,1
	4	Оракул	16,5	9,9	10,6	12,3	0,54	20,6
	5	Биогумус	6,7	13,7	14,0	14,8	0,20	4,5
	6	Контроль	17,8	14,3	14,5	15,5	0,23	–
		Х-по препаратам	13,9	11,2	11,5	12,2	0,22	–

На фоне выявленных общих тенденций реакций генотипов сортов, на изучаемые Р.Р.Р. следует отметить специфичность реакций генотипов сортов на препарат Оракул. Так, при одинаковых средних показателях гибели растений за зимний период с вариантом 3 (Вымпел) у сорта Луга Вита и практически одинаковых показате-

лях у сорта Августа, показатели коэффициентов стабильности по годам исследований кардинально различны. Показатели эффективности применения Р.Р.Р. указывают на конкретную общую тенденцию положительной реакции генотипов сортов на изучаемые регуляторы роста растений.

Выводы

Из проведенного анализа данных нашего эксперимента необходимо сделать следующие заключения:

- анализ полученных данных указывает на явное наличие положительного эффекта от применения Р.Р.Р.;
- рост активизирующие препараты способствуют повышению зимостойкости растений мягкой озимой пшеницы;
- генотип сорта Августа обладает слабой адаптационной способностью к поздним срокам сева;
- прослеживается существенная разница между реакциями генотипов сортов мягкой озимой пшеницы на каждый из изучаемых препаратов;
- четко прослеживается особенность реак-

ции генотипа сорта Августа на изучаемые рост активизирующие препараты в комплексе с погодно- климатическими факторами;

- при выращивании мягкой озимой пшеницы для получения наименьшей гибели растений в зимний период наиболее целесообразна обработка семян комплексом рост активизирующих препаратов (Вымпел К + Оракул);
- характер реакции генотипа сорта на изучаемые препараты, зависит прежде всего: от генотипа самого сорта, применяемого Р.Р.Р., взаимосвязи генотип-совокупность погодных факторов;
- показатель эффективности применяемого препарата значительно выше в годы с неблагоприятным сочетанием элементов погоды.

Литература

1. Гусейнов Д.М. Применение ископаемых органических веществ в целях повышения урожайности сельскохозяйственных культур Изд. АН Азербайджанской ССР, 1957. – 34 с.
2. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

3. Изаков Ф.Я., Логинова Т.Я., Басов А.М. Влияние электрического поля постоянного тока на семена // Сад и огород. – 1958. – №4. – С. 11–19.
4. Кочетков В.С., Савкин Н.Л., Кравченко Г.А., Федоренко Е.М. Влияние регулятора роста «Вымпел» на урожайность и содержание клейковины у озимой пшеницы // Зб. наук. праць ЛНАУ.– Луганськ. – 2006. – №58 (81). – С. 55–59.
5. Леман Е. Айхеле Ф. Физиология прорастания семян злаков (перевод с немецкого). – Л.: Сельхозиздат, 1939. – 211 с.
6. Методика государственного сортоиспытания сельскохозяйственных культур. – М.: Колос, 1971. – Вып. 2. – С. 6–65.
7. Савкин Н.Л., Похвалитый А.П., Янгичер В.И. Влияние объемно-комбинационных магнитных полей на высоту прикрепления нижнего боба у сои // Зб. наук. праць ЛНАУ. – Луганськ, 1999. – № 5 (14). – С.171–178.
8. 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 международного симпозиума нетрадиционное растениеводство, селекция, экология, экология и здоровье. – Симферополь Таврия, 2006. – С. 410–412.

**SAVKIN N.L., KOVTUN N.V., SHELIHOV P.V., MARUHA N.N., PAVLOVA M.V.,
PONOMARJOVA K.V.**

Lugansk National Agrarian University

Ukraine, 91008, Lugansk 8, LNAU, e-mail: rector @ lnau.lg.ua

THE PECULIARITIES OF SOFT WINTER WHEAT VARIETY GENOTYPES REACTION TO PLANT GROWTH REGULATORS PREDETERMINING WINTER HARDINESS INDEX

Purpose. To define the reaction of soft winter wheat variety genotypes in various agroecological groups and different selection centres to the use of various of plant growth regulators (P.G.R.) that stipulate winter hardiness index. **Techniques.** We studied five variants with the use of P.G.R. such as Biohumus, Vympel, Vympel K, Orakul and Vympel K + Orakul, controlling is carried on P.G.R. in accordance with field experience techniques. **Results.** The peculiarities of winter wheat variety genotypes reaction to the nature of winter hardiness index development when seeds are treated by plant growth regulators have been studied. **Conclusions.** Growth activating products encourage the increase of soft winter wheat hardiness. The nature of the genotype reaction to the products studied is defined, first of all, by the genotype of the variety itself, by the plant growth regulators used, and by the interaction of the genotype set of weather factors.

Key words: a genotype, a plant growth regulator, winter hardiness.

СМАЗНОВА И.А., НЕМЦОВА К.Н., ЗАЯКИН В.В., НАМ И.Я.

Брянский государственный университет имени академика И.Г. Петровского

Россия, 241036, г. Брянск, ул. Бежицкая, 14, e-mail: iyanam1@yandex.ru

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ПЛЕМЕННЫХ БЫКОВ БРЯНСКОЙ ОБЛАСТИ ПО ГЕНУ BoLA-DRB3

В Брянской области имеется 31 неблагополучный в отношении лейкоза пункт. Инфицированность в отдельных хозяйствах достигает 85 %. Наибольшее распространение болезни отмечается в Брянском, Гордеевском, Дятьковском, Погарском, Клинцовском, Мглинском районах [1].

По данным ветеринарной службы за 6 месяцев 2012 года от лейкоза умерло 1530 голов КРС, из них 97 % составляет молодняк.

Одним из методов снижения заболеваемости лейкоза является проведение ранней диагно-

стики заболевания с использованием молекулярно-генетических методов и последующей изоляцией инфицированных животных [2].

Особую актуальность имеет изучение генетической устойчивости или расположенности КРС к лейкозу, основанное на определении аллельного полиморфизма гена BoLA-DRB3. Этот метод был разработан в Институте Общей генетики Г.Е. Сулимовой.

Используя данный подход, в ИННО-центре биотехнологии и экологии БГУ была начата работа по проведению скрининга животных

по гену BoLA-DRB3 [3].

Было проанализировано 600 коров черно-пестрой, симментальской, красно-пестрой, швицкой, айширской породы из шести хозяйств Брянской области. Наблюдаются различия в

Материалы и методы

Объект исследования – сперма быков предприятия ОАО «Брянское» по племенной работе.

Было проанализировано 56 особей черно-пестрой, голштинской, симментальской, швицкой, красно-пестрой и аббердин-ангусской породы.

ДНК выделяли из спермы быков с помощью набора реагентов ExtraGene™DNAprep 100 (ООО «Лаборатория Изоген», Москва) с модификацией метода.

Проведение ПЦР. Для выявления полиморфизма гена BoLA-DRB3 амплифицировали фрагмент длиной 284 п.о., используя праймеры HLO30 и HLO32. Температурный профиль ПЦР описан в ранее опубликованной

распределении индивидуальных аллелей гена [4, 5].

Целью данного исследования является изучение полиморфизма гена BoLA-DRB3 у племенных быков Брянской области.

статье [6].

Визуализацию продуктов ПЦР проводили в системе GelDoc (фирма BioRad) с использованием 1 % агарозного геля, содержащего 0,1 мкг/мл этидия бромида.

Продукты амплификации обрабатывали эндонуклеазами рестрикции RsaI, HaeIII и BstYI. Визуализацию продуктов рестрикции проводили в системе GelDoc с использованием 9 % полиакриламидного геля, окрашенного этидием бромидом.

Для установления генотипов использовали физическую карту рестрикции и таблицу определения аллелей гена BoLA-DRB3 на основе рестрикционного анализа по vanEijketal. 1992; Gelhausetal. 1995; Maillardetal. 1999 [7].

Результаты и обсуждение

Полученные результаты по каждой породе представлены в таблицах 1 – 6.

Таблица 1. Распределение аллелей гена BoLA-DRB3 черно-пестрая порода

№ п/п	Кличка	Номер животного	Спектры RsaI, HaeIII, BstYI	Номер аллеля-по ПЦР-ПДРФ
1	Мильный	1015	gae/nab	11/23
2	Луч	9822	ecc/ nab	7/23
3	Ласковый	1790	obb/maa	28/32
4	Алан	562	mab/nab	22/23
5	Койт	1370	gae/nbb	11/24
6	Мажор	463	gae/nbb	11/24
7	Лак	7873	jdb/mab	16/22
8	Альпинист	5433	faa/jdb	8/16
9	Атлант	588	mab/nbb	22/24
10	Сапфир	685	mab/mab	22/22
11	Звон	646	nbb/nbb	24/24
12	Кадр	1892	jdb/nbb	16/24
13	Риск	8507	mab/nbb	22/24
14	Гвидон	7951	jdb/nbb	16/24
15	Акробат	2793	mab/nbb	22/24
16	Дадон	283	bbb/nbb	3/24
17	Нектар	671	faa/lfb	8/18
18	Витязь	5521	ecc/faa	7/8
19	Мунк	69	fad/fab	9/10

Установлено, что аллели *11, *23, *28 связаны с устойчивостью к лейкозу, а * 8, *16,

*24 – аллели чувствительности [8, 9, 10].

У быков черно-пестрой породы наблю-

дается распределение аллелей гена BoLA-DRB3 по 6 генотипам. В гомозиготном состоянии поч-

ти 50 % особей имеют чувствительные аллели, а аллели устойчивости – 5,3 % (рис. 1).

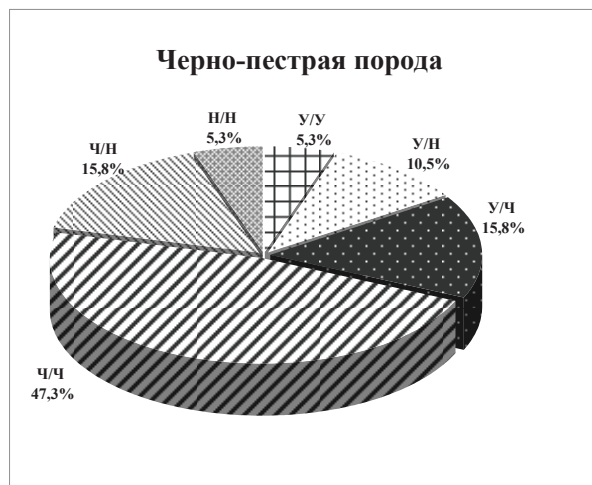


Рис 1. Соотношение генотипов, устойчивых, чувствительных и нейтральных к вирусу лейкоза, у быков черно-пестрой породы

Таблица 2. Распределение аллелей гена BoLA-DRB голштинской породы

№ п/п	Кличка	Номер животного	Спектры Rsa I, Hae III, Bst Y I	Номер аллеля по ПЦР-ПДФ
1	Фриланд	89	gae/oab	11/37
2	Ергон	52	nab/oab	23/37
3	Торшер	241	gae/mab	11/22
4	Смелый	2766	mab/nab	22/23
5	Салют	2239	jdb/mab	16/22
6	Мутант	250	nbb/nbb	24/24
7	Джель	446	faa/nbb	8/24
8	Гордый	583	ecc/jdb	7/16
9	Реал	1522	jdb/lbb	16/20
10	Лужок	426	ecc/mab	7/22

У быков голштинской породы получено 4 генотипа. 30 % особей имеют генотип Ч/Ч (рис. 2).



Рис. 2. Соотношение генотипов, устойчивых, чувствительных и нейтральных к вирусу лейкоза, у быков голштинской породы

Таблица 3. Распределение аллелей гена BoLA-DRB швицкая порода

№ п/п	Кличка	Номер животного	Спектры Rsa I, Hae III, Bst Y I	Номер аллеля по ПЦР-ПДРФ
1	Зодиак	2029	ecc/nab	7/23
2	Герой	8410	lbb/obb	20/28
3	Бочок	690	fab/obb	10/28
4	Добрый	8791	obb/web	28/49
5	Уран	8803	fab/obb	10/28
6	Беляк	3345	mab/oab	22/37
7	Алмаз	2071	ecc/ofb	7/27
8	Полет	8793	ecc/ecc	7/7
9	Поток	8673	fab/lbb	10/20
10	Нил	8799	ecc/fab	7/10

У быков швицкой породы выявлено 3 генотипа. Из них 50 % особей имеют генотип У/Н (рис. 3).

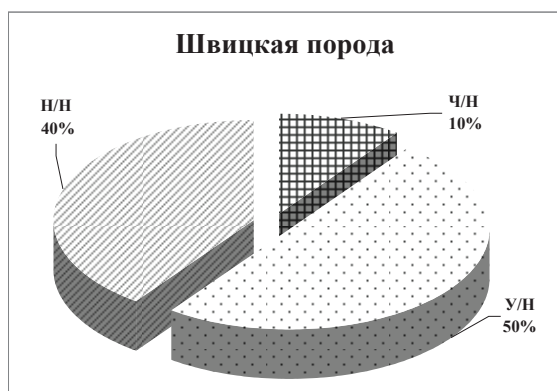


Рис. 3. Соотношение генотипов, устойчивых, чувствительных и нейтральных к вирусу лейкоза, у быков швицкой породы. 45 % быков симментальской породы имеют генотип Ч/Н (рис. 4).

Таблица 4. Распределение аллелей гена BoLA-DRB симментальская порода

№ п/п	Кличка	Номер животного	Спектры Rsa I, Hae III, Bst Y I	Номер аллеля по ПЦР-ПДРФ
1	Хорст	3979	ecc/gae	7/11
2	Задорный	152	gae/kib	11/44
3	Лентяй	153	nbb/obb	24/28
4	Напиток	3003	gae/jdb	11/16
5	Завет	6253	daa/jdb	6/16
6	Галебо	1067	faa/lfb	8/18
7	Бокал	5438	ecc/mab	7/22
8	Лорд	7002	aaa/jdb	1/16
9	Мудрый	5742	iaa/iaa	15/15



Рис. 4. Соотношение генотипов, устойчивых, чувствительных и нейтральных к вирусу лейкоза, у быков симментальской породы

Распределение аллелей и генотипов быков красно-пестрой породы представлено в таблице 5 и на рисунке 5.

Таблица 5. Распределение аллелей гена BoLA-DRB красно-пестрая порода

№ п/п	Кличка	Номер животного	Спектры Rsa I, Hae III, Bst Y I	Номер аллеля по ПЦР-ПДРФ
1	Мануэль	718939545	gae/cbb	11/35
2	Букет	9975	bbb/gae	3/11
3	Чай	9686	ecc/nbb	7/24
4	Баян	2048	aaa/haa	1/12



Рис. 5. Соотношение генотипов, устойчивых, чувствительных и нейтральных к вирусу лейкоза, у быков красно-пестрой породы

Таблица 6. Распределение аллелей гена BoLA-DRB абердин-ангусская порода

№ п/п	Кличка	Номер животного	Спектры Rsa I, Hae III, Bst Y I	Номер аллеля по ПЦР-ПДРФ
1	Храбрый	587	iab/nbb	15/24
2	Стрегун	519	haa/haa	12/12
3	Маяк	595	haa/haa	12/12
4	Козырь	1455	aaa/haa	1/12

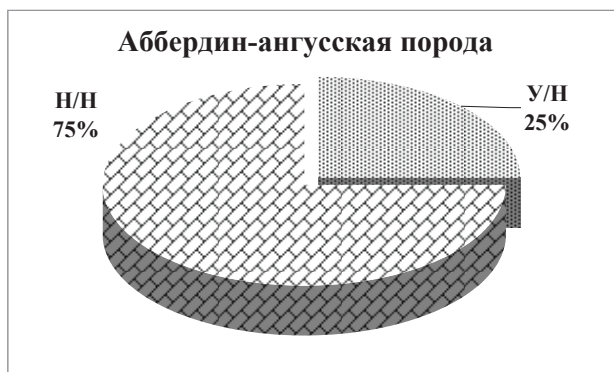


Рис. 6. Соотношение генотипов, устойчивых, чувствительных и нейтральных к вирусу лейкоза, у быков аббердин-ангусской породы

Выводы

Таким образом, проведенное исследование позволит провести подбор быков и коров, обладающих аллелями устойчивости, и начать на-

правленную селекционную работу по формированию стада, генетически устойчивого к лейкозу.

Литература

1. Целевая программа оздоровления крупного рогатого скота от заболевания лейкозом в Брянской области на 2002–2006 годы.
2. Ковалюк Н.В. Молекулярно-биологические методы для оздоровления стад крупного рогатого скота от лейкоза // Ветеринария. – 2008. – № 2. – С. 22–26.
3. Аксенова Е.Н., Козлов А.Л., Смазнова И.А. Анализ генетического разнообразия крупного рогатого скота разных пород Брянской области по гену BoLA-DRB3, кодирующему устойчивость КРС к лейкозу: материалы Международной практической конференции [«Трансфер инновационных биотехнологий в растениеводстве, животноводстве, медицине, экологии»]. – Брянск, 2012. – С. 7–10.
4. Смазнова И.А., Козлов А.В., Заякин В.В., Нам И.Я. Аллельный анализ гена BoLA-DRB3 в стадах крупного рогатого скота Брянской области // Вестник Брянского государственного университета. – 2010. – Т. 4. – С. 227–232.
5. Кожевина О.А., Смазнова И.А., Козлов А.Л., Заякин В.В., Нам И.Я. Исследование генетической устойчивости к лейкозу крупного рогатого скота методом ПЦР-ПДРФ: на примере популяции КРС Брянской области // Сборник трудов первой международной научно-практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине». – Санкт-Петербург, 2010. – Т.4. – С. 249–251.
6. Козлов А.Л., Смазнова И.А., Заякин В.В., Нам И.Я. Анализ полиморфизма гена BoLA-DRB3 у симментальской породы крупного рогатого скота // Известия Самарского научного центра РАН. – 2011. – Т. 13, № 5. – С. 248–250.
7. Сулимова Г.Е., Зинченко В.В. Анализ полиморфизма ДНК с использованием метода полимеразной цепной реакции // Методическое пособие к практикуму «ДНК-маркеры для генетической паспортизации и улучшения геномов животных хозяйственно ценных видов». – 2011. – С. 34–38.
8. Удина И.Г., Карамышева Е.Е., Туркова С.О., Орлова А.Р., Сулимова Г.Е. Генетические механизмы устойчивости и чувствительности к лейкозу айрширской и черно-пестрой пород крупного рогатого скота, установленные на основе распределения аллелей гена BoLA-DRB3 // Генетика. – 2003. – № 39 (3). – С. 383–396.
9. Juliarena M.A., Poli M., Ceriani C., Sala L., Rodriguez E., Gutierrez S., Dolcini G., Odeon A., Esteban E.N. Antibody response against three widespread bovine viruses is not impaired in Holstein cattle carrying bovine leukocyte antigen DRB3.2 alleles associated with bovine leukemia virus resistance // J. Dairy Sci. – 2009. – Vol. 92, № 1. – P. 375–381.
10. Xu A. Polymorphism in BoLA – DRB3 Exon 2 correlates with resistance to persistent lymphocytosis caused by bovine leukemia vir. J. Immun. – 1993. – V. 151, № 12. – P. 6977–6985.

СМАЗНОВА И.А., НЕМТЦОВА К.Н., ЗАЯКИН В.В., НАМИ. ЯА.

Bryansk State University named after academician I.G. Petrovsky

Russia, 241036, Bryansk, Bezhitskaya str., 14, e-mail: iyanam1@yandex.ru

THE GENETIC POTENTIAL ANALYSIS OF THE BREEDING BULLS OF THE BRYANSK REGION BASED ON GENE BOLA-DRB3

Aim. Analysis of gene BOLA-DRB3 polymorphism of breeding bulls. **Methods.** We used the method of PCR-RFLP. **Results.** Spectrum of resistance and susceptibility alleles has been determined. **Conclusions.** Results obtained will be used to composite cattle leucosis resistance herd.

Key words: breeding bulls, BOLA-DRB3 gene, stable alleles, sensitive alleles.

ТРУХАН В.А., КОЗЛОВ Н.Н., КОРОВИНА В.Л.

ГНУ ВИК Россельхозакадемии

РФ, 141055, МО, г. Лобня, ул. Научный городок, e-mail: vtrukhan@yandex.ru

СТРАТЕГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНОФОНДА ДИКОРАСТУЩЕЙ ФЛОРЫ МНОГОЛЕТНИХ ТРАВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ В РОССИИ

В условиях изменяющегося климата и агрессивного воздействия антропогенного фактора на окружающую среду сохранение генофонда дикорастущей флоры многолетних трав, как источника селекционно-ценного генетического материала, имеет стратегическое значение для обеспечения экологически безопасного земледелия в России. Коллекция кормовых культур ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса насчитывает более 6 тысяч образцов дикорастущих и культурных растений, которые эффективно используются в селекционных программах.

Растения, являющиеся первичными продуцентами и составляющие основу наземных биогеоценозов, действенную энергию солнечного луча преобразовывают и воплощают в определенную вещественную форму. Эта вещественная форма – органическое вещество служит пищей и источником энергии для всего животного мира и человека в том числе. Среди факторов, влияющих на продуктивность растения, таких как свет, тепло, вода и пищевые вещества, в основном в земледелии мы можем пользоваться двумя последними. В.Р. Вильямс в своей книге «Основы земледелия» указывает на этот факт, что вся задача земледелия, оставляя в стороне селекцию, сводится как раз к регулированию отношения растений к воде и к элементам пищи посредством агротехнических приемов [1]. В.Р. Вильямс, неслучайно выделяя селекцию, подразумевает то, что селекции принадлежат свои сильные рычаги воздействия на генетический потенциал растений, определяющий продуктивность сорта и, как итог, устойчивое ведение все-

го земледелия в целом.

В основе создания новых сортов лежит исходный материал, включающий в себя генотипы различного эколого-географического происхождения. В современных условиях под воздействием биотических и абиотических факторов изменяющейся среды могут быть безвозвратно утрачены не только отдельные редкие виды растений, но и ценные генотипы широкого спектра видов, наиболее часто используемых в культуре [2, 3]. Опасности подвержены местные сорта и дикорастущие популяции, имеющие определенные хозяйственно-ценные признаки для селекции, но не имеющие в настоящее время широкого применения [4]. Поэтому сохранение генофонда дикой флоры трав имеет стратегическое значение для создания экологически безопасного земледелия в России.

В растительных сообществах травы занимают лидирующее положение, как наиболее способные к адаптации в различных экстремальных условиях произрастания. Более 10 тысяч видов и одна четвертая часть всей растительной жизни на Земле принадлежит травам. Ареал распространения большинства видов трав достаточно широк. Благодаря их пластичности они произрастают и на крайнем Севере, и в условиях тропиков или жарких пустынь [5, 6, 7]. Травы требуют вдвое меньше влаги, чем большинство деревьев, выдерживают интенсивное стравливание животными, способны к опылению ветром. Больше половины всех видов трав имеют те или иные хозяйственно-ценные признаки и свойства, позволяющие их использовать

в разных направлениях народного хозяйства. Однако самое большое значение для человечества имеют кормовые злаковые и бобовые травы, как неиссякаемый источник пищи для сельскохозяйственных животных.

Злаковые и бобовые кормовые травы – эта самая представительная группа трав в растительных дикорастущих сообществах, а также на культурных лугах, пастбищах и в полевых севооборотах. В Российской Федерации от 65 до 70 % площадей от всех сельскохозяйственных земель занято возделываемыми кормовыми культурами. В настоящее время с полевых земель получают больше 75 % всех кормов и более половины зеленых кормов для животноводства [8]. В условиях постоянного увеличения численности населения на планете, наблюдается перспектива освоения новых территорий под сельскохозяйственные угодья, жилые и промышленные объекты. Повышение урожайности и интенсификация сельскохозяйственного производства будут тесным образом связаны химизацией и мелиорацией земель. Особенно это касается культивирования зерновых и технических культур. Это может привести к серьезным экологическим изменениям: снижению плодородия почвы, к химическому загрязнению почвы промышленными стоками и увеличению ее эрозии. В этом плане более масштабное использование сортов и гибридов многолетних трав способствовало бы повышению плодородия почвы и снижению их загрязнения. Бобовые и злаковые травы менее требовательны к использованию химических средств защиты и гербицидов, произрастают длительное время и в производстве менее затратные, так как исключаются энергоемкие операции по ежегодной обработке почвы: вспашка, междурядная обработка и так далее.

Бобовые кормовые травы имеют способность создавать симбиотические комплексы с клубеньковыми бактериями, фиксирующими атмосферный азот [9, 10]. В результате такой совместной деятельности растений и бактерий бобовые травы могут накапливать значительное количество азота, которое эффективно используется последующими пропашными и зерновыми культурами в севообороте. Следует отметить, что связанный в корневых остатках биологический азот, минерализуется на протяжении долго периода времени, и, постепенно питая растения, не вымывается из почвы, не загрязняет водоемы, не накапливается в опасных концентрациях в виде нитратов.

Большое значение в повышении продуктивности сельскохозяйственных культур при-

надлежит мелиорации почв. Так при орошении на естественных сенокосах и пастбищах урожайность в южной лесостепи и степной зоне может возрастать в 4–4,5 раза [8]. При этом на новых освоенных землях внедряются культурные растения, сужающие своим присутствием ареал ранее произрастающих на этом месте экотипов, биотипов, популяций и даже целых видов дикорастущих растений [2]. Однако роль мелиорации в ближайшем будущем будет только возрастать из-за наблюдающегося в последнее время изменения климата на Земле [11]. Аномальные превышения среднесуточных температур воздуха и дисбаланс по количеству выпадающих атмосферных осадков в течение года, засухи – эти явления в последнее время все чаще наблюдаются в различных регионах России. Засуха особенно отрицательным образом сказывается на большинстве растений, произрастающих в условиях Нечерноземной зоны, из-за слабых вододерживающих свойств бедных гумусом песчаных и супесчаных дерново-подзолистых почв. Изменения же температуры и влажности почвы влияют на биохимические процессы, протекающие в почве, и на структуру её микробиологической компоненты. Наиболее приспособленными к таким изменениям могут оказаться кормовые травы с их богатейшим видовым и внутривидовым разнообразием. Перспективным также может оказаться интродукция культурных многолетних трав с типом фотосинтеза C_4 [12], как наиболее продуктивных и засухоустойчивых в условиях более высоких температур и повышенного содержания двуокиси углерода в атмосфере.

В настоящее время только около 30 видов многолетних трав широко и интенсивно используется в сельскохозяйственном производстве. Селекция кормовых трав имеет ряд специфических особенностей. В отличие от большинства культурных растений, среда обитания культурных и дикорастущих кормовых трав является совместной [12], поэтому происходит обмен генетической информацией с местными дикорастущими популяциями в результате их перекрестного опыления. Особенно нежелательным может быть использование иностранных нерайонированных сортов, не приспособленных для произрастания в данной эколого-географической зоне.

В результате окультуривания узкого количества растений с ценными признаками и получения сортов на основе скрещивания близкородственных, продуктивных форм происходит сужение генетического разнообразия возделывае-

мых сортов и снижение их адаптивного потенциала.

Поэтому, мелиорацию, строительство дорог и различных жилых объектов, промышленную и сельскохозяйственную деятельность человека следует рассматривать, как единый антропогенный фактор агрессивного изменения окружающей среды, сопровождающиеся некоторым разрушением традиционных компонентов биогеоценоза и созданием новых его структур. Такая деятельность вызывает законное беспокойство за сохранность почв и генофонда дикорастущей флоры. Поэтому для решения этих задач во многих странах научные исследования в настоящее время направлены на мобилизацию генетических ресурсов и создание генетических банков.

Для изучения дикорастущих кормовых растений и пополнения коллекции оригинальными образцами ВНИИ кормов совместно с ВНИИ растениеводства, начиная с 30-х годов, были организованы многочисленные экспедиции в различные регионы нашей страны. Только за последнее 13 лет организованы 15 экспедиций, в результате которых собрано более 2100 образцов – семена различных видов трав, включая редко встречаемые виды. Нашими экспедициями были охвачены районы: горного Алтая, Северного Кавказа, Карелии, Украины, Беларуси, северной, центральной и южной зон Европейской части России. Всего обследовано свыше 600000 га земель. В настоящее время в коллекции ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса хранятся 6430 образцов дикорастущих и культурных растений, представляющих 447 видов. Исключительную ценность для создания новых сортов многолетних трав в качестве исходного материала представляют генотипы популяций европейской и сибирской дикой флоры [13]. Поэто-

му, генофонд кормовых культур, собранный на территории России и находящийся в хранилищах нашего института, является уникальным.

Генетический материал многолетних трав из коллекций генофонда ВНИИ кормов интенсивно используется в различных селекционных программах в качестве доноров ценных биологических и хозяйственных признаков. Итогом многолетних исследований явилось более ста видов новых кормовых растений, предложенных для введения в культуру в различные почвенно-климатические зоны России. С использованием дикорастущих видов и местных популяций в нашей стране создано более 50 сортов люцерны, 92 – клевера лугового, 23 – эспарцета, 46 – тимфеевки луговой, 20 – овсяницы луговой, 15 – житняка; созданы сорта козлятника восточного, амаранта, клевера сходного, донника, сальфии и других видов [14].

Таким образом, в настоящее время селекция растений как наука, глубоко связанная с практикой, определяет эволюцию растительного мира и последующие изменения в растительных сообществах. Для создания экологически безопасного земледелия селекционерам, генетикам, физиологам и почвоводам необходимо совместно разработать стратегию и тактику развития кормопроизводства, отвечающую современным требованиям сельского хозяйства. В качестве исходного материала для создания сортов нового типа и интродукции новых видов кормовых культур может быть привлечен широкий спектр генетического разнообразия дикорастущих бобовых и злаковых трав из коллекции ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса. На их основе могут быть созданы высокопродуктивные, экологически безопасные и эффективные сельскохозяйственные сорта и гибриды для различных почвенно-климатических зон России.

Литература

1. Вильямс В.Р. Основы земледелия. – М.: ОГИЗ, 1946. – 190 с.
2. Карпачевский Л.О. Почва, мелиорация и охрана природы. – М.: Знание, 1987 – 64 с.
3. Дрё Ф. Экология. Пер. с фран. (Франция, 1974). – М., Атомиздат, 1976. – 168 с.
4. Дзюбенко Н.И., Потокина Е.К. Деятельность генных банков в целях мониторинга и предотвращения наиболее опасных последствий генетической эрозии // Тр. по прикл. бот., генетике и селекции. – С-П., 2009. – Т. 166. – С. 381–388.
5. Кумаков В.А. Коррелятивные отношения между органами растения в процессе формирования урожая // Физиол. Растений. – 1980. – Т. 15, № 2. – С. 278–284.
6. Новоселова А.С., Константинова А.М., Кулешов Г.Ф. и др. Селекция и семеноводство многолетних трав. – М.: Колос, 1978. – 304 с.
7. Вознесенский В.Л. Фотосинтез пустынных растений. – Л.: Наука, 1977. – 256 с.
8. Новоселов Ю.К., Шпаков А.С., Харьков Г.Д. Полевое кормопроизводство, как фактор стабилизации кормовой базы и биологизации земледелия // Кормопроизв. – М., 1997. – С.30–41.
9. Красильников Н.А. Микроорганизмы почвы и высшие растения. – М.: Изд-во АН СССР, 1958. – 92 с.
10. Трухан В.А., Трухан А.А. Внутривидовой полиморфизм клевера ползучего по азотфиксирующей способно-

- сти // Факторы экспериментальной эволюции организмов. – К.: ЛОГОС, 2010. – Т. 8. – С 449–453.
11. Жук О.И. Адаптивная эволюция водного режима и засухоустойчивости растений // Факторы экспериментальной эволюции организмов. – К.: ЛОГОС, 2010. – Т. 8. – С. 12–16.
 12. Козлов Н.Н., Коровина В.Л., Клименко И.А. и др. Особенности формирования исходного материала кормовых трав // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – С-П., 2009. – Т. 166. – С. 131–135.
 13. Вавилов Н.И. Избр. соч. // Генетика и селекция. – М.: Колос, 1966. – 559 с.
 14. Рубцов М.И., Яртиев А.Г. Генетический фонд кормовых культур и использование его в селекции. – В сб.: «Кормопроизводство», 1976. – Вып. 13.

TRUKHAN V.A., KOZLOV N.N., KOROVINA V.A.

All Russian Williams Fodder Research Institute

RF, 141055, Moscow reg., Lobnya, the Scientific town str., e-mail: vtrukhan@yandex.ru

THE STRATEGIC IMPORTANCE OF THE GENE POOL OF WILD FLORA OF PERENNIAL GRASSES FOR CREATE ENVIRONMENTALLY SAFE AGRICULTURE IN RUSSIA

Aims. In the conditions of changing climate and aggressive impact of anthropogenic factors on the environment preservation of the gene pool of wild flora of perennial grasses, as a source of selective cross-breeding of valuable genetic material, is of strategic importance for ensuring the environmentally safe agriculture in Russia. **Methods.** Expeditionary collection, storage, reproduction and maintenance of the collection in the laboratory and field conditions. **Results.** Collection of perennial grasses of All Russian Williams Fodder Research Institute has more than 6 thousand specimens of wild-growing and cultural plants. **Conclusions.** Collection of perennial grasses can be more efficiently used for creation of highly productive agricultural varieties and hybrids for different soil-climatic zones of Russia.

Key words: biogeocenosis, the gene pool of wild perennial grasses, the initial breeding material, breeding program, ecology.

ШТАРК О.Ю.¹, ОВЧИННИКОВА Е.С.¹, ЛИМПЕНС Э.², ЖУКОВ В.А.¹, БОРИСОВ А.Ю.¹, ФЕДОРОВА Е.Е.², БИССЕЛИНГ Т.², ТИХОНОВИЧ И.А.¹

¹ *Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии (ГНУ ВНИИСХМ Россельхозакадемии)*

Санкт-Петербург, г. Пушкин, ш. Подбельского, д. 3, e-mail: oshtark@yandex.ru

² *Университет Вагенингена, лаборатория молекулярной биологии*

The Netherlands, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB, Wageningen

НОВЫЕ ДАННЫЕ О РОЛИ LRR-РЕЦЕПТОРНОЙ КИНАЗЫ SYM19 В ФОРМИРОВАНИИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА И АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ У ГОРОХА

Бобовые обладают уникальной способностью к формированию, по крайней мере, двух мутуалистических эндосимбиозов – бобово-ризобиального симбиоза (БРС) с протеобактериями различных субклассов [1, 2] и арбускулярной микоризы (АМ) с грибами отдела *Glomeromycota* [3]. Симбиозы характеризуются формированием высокодифференцированных внутриклеточных структур (симбиосом или арбускул, соответственно), окруженных симбиотическими мембранами, обеспечивающими тесную метаболическую интеграцию партнеров.

В отличие от анатомически слабовыраженной АМ, при бобово-ризобиальном симбиозе (БРС) образуется новый орган – азотфиксирующий клубенек, процесс развития которого

включает две независимые четко скоординированные между собой подпрограммы: колонизации и органогенеза клубенька [4]. У большинства бобовых колонизация растительных тканей клубеньковыми бактериями происходит через клетку корневого волоска по цитоплазматическому тоннелю, выстроенному растением от клетки к клетке, в результате чего образуется инфекционная нить (ИН) [5]. Считается, что эволюционной основой этого процесса является программа колонизации тканей корня АМ грибами [6]. В то время как арбускулы остаются неразрывно связанными с мицелием [7], при развитии БРС у эволюционно продвинутых бобовых «галеоидного» комплекса, к которым относится горох (*Pisum sativum* L.), происходит

эндоцитозоподобный «захват» клубеньковых бактерий цитоплазмой растительной клетки [4, 8, 9]. Бактерии обособляются от ИН, образуются симбиосомы, внутри которых клубеньковые бактерии необратимо дифференцируются в азотфиксирующую форму – бактериоиды [5]. В органогенезе клубенька гороха участвуют две меристемы: сначала во внутренних слоях корня формируется клубеньковый примордий, затем клубенек растет за счет активности апикальной меристемы [2, 10].

Формирование БРС и АМ контролируется сигнальным путем, компоненты которого были идентифицированы с использованием генетических подходов [4]. Микросимбионты выделяют диффундирующие липохитоолигосахаридные молекулы [5, 11], узнавание которых специфическими растительными рецепторами приводит к запуску общего сигнального каскада (от англ. «Common Symbiotic Pathway», CSP). В клетках корня детектируются так называемые «кальциевые волны», активируемые LRR-рецепторной киназой SYM19/DMI2/SYMRK (от англ. «Leucine-Reach Repeats» - богатые лейцином повторы) при участии катионного канала SYM8/DMI1/CASTOR/POLLUX [4, 12]. «Кальциевые волны» воспринимаются кальций/кальмодулин-зависимой киназой SYM9/DMI3/CCaMK [12], которая совместно с белком SYM33/IPD3/CYCLOPS [13, 14] активирует экспрессию последующих симбиотических генов, кодирующих транскрипционные факторы. Нокаут-мутации в генах, кодирующих перечисленные белки, обычно приводят к нарушению проникновения АМ грибов и ризобий в эпидермис и органогенеза клубенька [4, 12, 13].

Материалы и методы

В работе использована мутантная линия гороха RisFixA (*sym41*), индуцированная на генотипе Finale в результате ЭМС-мутагенеза [17]. Семена гороха стерилизовали концентрированной серной кислотой в течение 10 мин и проращивали перед посадкой. Инокуляцию производили штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* 248lacZ [18]. Полив растений осуществляли раствором без азота [19]. Для изучения развития АМ использовали инокуляционную систему со шнитт-луком (*Allium schoenoprasum* L.) [20], с модификациями. В качестве грибного партнера был использован изолят *Glomus intraradices* N. C. Schenck & G. S. Sm., BEG144.

Анализ развития БРС и АМ производили с использованием световой микроскопии. Анализ развития ИН производили через 16 дней после

Недавние исследования продемонстрировали, что белки CSP, в частности, DMI2 [8]) и IPD3 [13, 14], также важны для формирования симбиосом в клубеньках.

У гороха получен ряд мутантов с нарушениями различных стадий развития симбиосом [4]. С целью получения дополнительной информации о молекулярных механизмах формирования симбиотических компартментов, данное исследование было посвящено изучению мутанта гороха *sym41*, характеризующегося нарушением выхода бактерий из ИН и дифференцировки бактериоидов [15]. В отношении развития БРС мутант *Sym41* проявлял фенотип, сходный с фенотипом мутанта по гену *Sym33*, кодирующему SYM33/IPD3/CYCLOPS, однако комплементационный анализ продемонстрировал, что эти мутанты представляют разные гены [15, 16].

С целью идентификации гена *Sym41*, в данной работе был использован феномен обширной синтении геномов гороха и модельного бобового *Medicago truncatula* Gaertn. С помощью картирования и последующего клонирования *Sym41* в данном исследовании было установлено, что *sym41* представляет «слабую» мутантную аллель гена *Sym19*, кодирующего LRR-рецепторную киназу. Изучение экспрессии гена *Sym19* у мутанта *sym41* в комплексе с его детальным фенотипическим анализом в отношении развития БРС и АМ позволили выявить различные роли SYM19 в формировании этих двух симбиозов, а также разницу в уровнях этого белка, требуемых для успешного развития симбиотических структур на уровне примордия/коры корня и эпидермиса.

инокуляции. Фиксацию и окрашивание тканей корня проводили согласно [21]. Для анализа структуры клубеньков готовили полутонкие срезы [22]. Количественную оценку АМ производили по Трувелю [23] с использованием окрашивания по методике [24].

Для картирования мутации *sym41* растения поколения F₂ от скрещивания линии RisFixA (*sym41*) и NGB1238 (*Sym41*) выращивали без азота и оценивали расщепление по признаку: белые клубеньки Fix⁻ vs. розовые клубеньки Fix⁺. Из листьев каждого растения индивидуально выделяли тотальную ДНК с использованием СТАВ-метода [25]. Условия анализа косегрегации фенотипа Fix⁻ *sym41* с молекулярными CAPS-маркерами приведены в работе Е.С. Овчинниковой [22].

Для проведения количественной ПЦР «в реальном времени» из 21-дневных клубеньков линий *sym41* и Finale (WT) выделяли РНК по методике [9]. В качестве референсного гена использовали *Ubiquitin*. Последовательности праймеров приведены в работе Е.С. Овчинниковой [22].

Тест на аллелизм проводили на материале F₁ от скрещивания линии RisFixA (*sym 41*) с линиями P6 (*sym19*) и Sprint2Nod3 (*sym19*). Ре-

зультаты теста оценивали на основании признаков: 1) количество клубеньков; 2) белые клубеньки Fix⁻ vs. розовые клубеньки Fix⁺.

Трансформацию гороха производили с использованием штамма *Agrobacterium rhizogenes* ARqual, несущего конструкцию *DMI2p::DMI2-GFP* [8, 22].

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием SigmaStat 3.5 для Windows (SPSS Inc., Chicago, U.S.A.).

Результаты и обсуждение

Анализ развития БРС. Установлено, что мутант отличается сниженным количеством клубеньков. Вместе с тем, у мутанта образуется в 2 раза меньше ИН, при этом, нарушения развития ИН выявляются более чем в 7 раз чаще, чем у исходной линии. Световая микроскопия полутонких срезов клубенька показала, что у мутанта в зоне инфекции (в апикальной части клубенька) нарушены развитие ИН и дифференцировка бактериоидов. Данный фенотип явно демонстрирует необходимость гена в развитии, как инфекции, так и симбиотических компартментов. Тем не менее, в основании клубенька мутанта обнаруживались развитые симбиосомы.

Анализ развития АМ. Показано, что у линии гороха *sym41* мутация проявляется в более низкой скорости микоризации корней, формировании на корнях мутанта гипертрофированных апрессориев и повышении их количества (через 16 дней культивирования), а также более низкой скорости формирования арбускул, по сравнению с исходным генотипом Finale. В то же время предварительный анализ структуры

клеток, содержащих арбускулы, не выявил нарушений в развитии арбускул у мутанта (Зубкова Л.А., неопубликованные данные).

Идентификация гена *Sym41*. С использованием межвидовых маркеров была проведена генетическая локализация гена *Sym41* на генетической карте гороха. На основании результатов картирования, а также фенотипической характеристики мутанта, было предположено, что мутантный ген *sym41* может представлять собой слабую мутантную аллель гена *Sym19*, локализованного в том же районе генетической карты гороха. Созданный на основе последовательности *Sym19* молекулярный маркер продемонстрировал полное сцепление с мутантным фенотипом *sym41*. Последовательность гена *Sym19* была амплифицирована на ДНК гороха линий Finale (WT) и RisFixA (*sym41*) и секвенирована, в результате чего была найдена мутация (A→G) в 3'-сайте сплайсинга интрона 9 в гене *Sym19* (рис. 1).

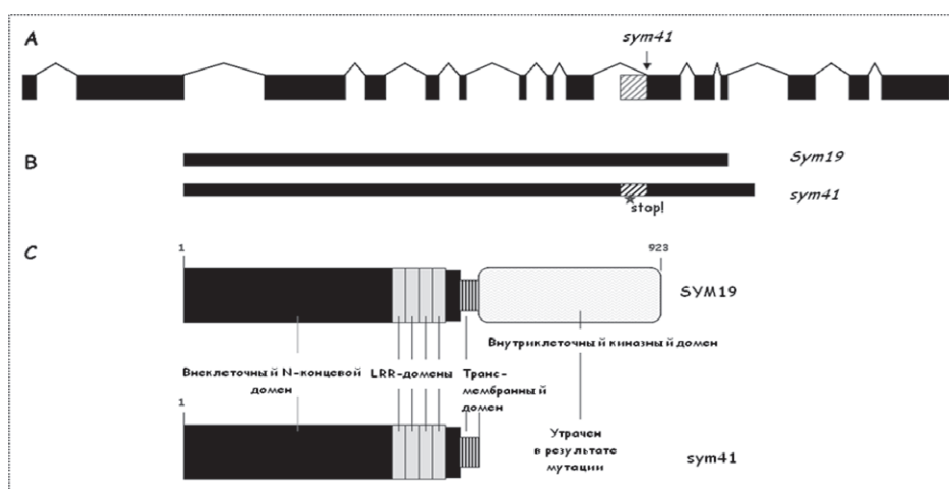


Рис. 1. Структура гена *Sym19* и кодируемого им белка. А – экзон-интронная структура гена *Sym19*; В – транскрипты гена *Sym19* у линии «дикого типа» Finale и мутантной линии RisFixA (*sym41*); С – доменная структура нормального белка SYM19 и его укороченной версии (SYM41)

С использованием количественной ПЦР «в реальном времени» выявлено, что мутация у *sym41* приводит к образованию нового стоп-кодона и, в свою очередь, к синтезу укороченного белкового продукта, лишенного киназного домена. В то же время у мутанта образуется около 11 % нормальных транскриптов, соответствующих WT. Таким образом, подтверждено, что *sym41* представляет слабую мутантную аллель гена *Sym19*.

Комплементационный анализ мутации sym41. Для дополнительного подтверждения того, что *Sym41* действительно кодирует LRR-рецепторную киназу SYM19, использовали классический тест на аллелизм и комплементацию *sym41* гомологичной последовательностью *DMI2* *M. truncatula*. Тест на аллелизм между линией *sym41* и линиями P6 (*sym19*) и Sprint-2Nod-3 (*sym19*) показал, что фенотип растений F1 не отличается от мутантного фенотипа *sym41*, что подтверждает гипотезу об аллельности *sym41* и *sym19*. С использованием световой микроскопии было установлено, что клубеньки мутанта *sym41*, трансформированные конструкцией *DMI2p::DMI2-GFP*, и клубеньки линии Finale (WT) имеют сходную гистологическую структуру, что строго свидетельствует о том, что ген *Sym41* кодирует SYM19/DMI2.

LRR-рецепторная киназа SYM19/DMI2/SYMRK (и ее ортологи) является одним из ключевых белков, участвующих в процессе колонизации корня микроорганизмами при формировании различных мутуалистических симбиозов, таких как АМ, БРС и актиноризные клубеньки [4, 12, 26]. Также установлена роль этого белка в формировании симбиосом в клубеньках бобовых [8]. Данное исследование продемонстрировало, что ЭМС-мутант гороха *sym41*, представляет слабую мутантную аллель гена *Sym19*, ортологичного *DMI2/SYMRK*, и позволило выявить новые механизмы формирования симбиотических компартментов симбиоза.

На основании фенотипического анализа, проведенного в данной работе, в целом, подтверждающего результаты более ранних исследований [10, 15], было выявлено, что мутация у *sym41* приводит к нарушению обеих подпро-

грамм развития БРС у гороха, таких как колонизация (от клетки эпидермиса – корневого волоска до терминальной стадии – формирования симбиосом) и органогенез клубенька. Однако обнаружение у данного мутанта нормальных симбиосом в основании клубенька позволяет предположить, что мутация, приводящая к существенному снижению уровня экспрессии гена *Sym19*, затрагивает процесс их формирования только в зонах клубенька, сформированных в результате активности его апикальной меристемы. Таким образом, на уровне примордия/коры корня для успешного формирования симбиоза требуется более низкий уровень экспрессии *Sym19*. Ранее было показано, что уровень экспрессии гомологичного гена *DMI2* у *M. truncatula* в корнях почти в 2 раза ниже, чем в апикальной части клубенька [8].

Установлено, что в процессе формирования АМ у гороха мутация в этом гене приводит к существенному снижению уровня колонизации. Образование гипертрофированных апрессориев свидетельствует о нарушении прохождения грибом эпидермального барьера [27]. В то же время процесс развития арбускул, локализующихся во внутреннем слое коры, у *sym41* не нарушен. Обнаружение у *Lotus japonicus* мутанта *symrk-14* в гене, ортологичном *Sym19* гороха, имеющего сходный фенотип с *sym41* в отношении развития АМ [20], подтверждает предположение о том, что развитие симбиоза в эпидермисе требует более высоких доз белка SYM19/DMI2/SYMRK по сравнению с клетками коры. Однако сходный эффект на формирование симбиосом и дифференцировку бактериоидов у *symrk-14* лядвенца не был описан.

В целом, недавние работы по изучению растительных мутантов, дефектных в общих симбиотических генах, дают четкие доказательства того, что компоненты общего сигнального пути, контролирующие ранние симбиотические ответы, также важны на более поздних этапах развития БРС. Решение вопроса о том, каким образом CSP регулирует формирование симбиосом, лежащее в основе БРС, является темой будущих исследований.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ (Соглашение № 8056), грантов: президента РФ (НШ-337.2012.4), РФФИ (12-04-01687; 12-04-32126; 13-04-01702; 13-04-01703), NWO Centre of Excellence (047.018.001).

Литература

1. Balachandar D. Raja P., Kumar K. et al. Non-rhizobial nodulation in legumes // *Biotechnol. Molec. Biol. Rev.* – 20. Vol. 2. – P. 49–57.
2. Sprent, J.I., James, E.K. Legume evolution: where do nodules and mycorrhizas fit in? // *Plant Physiol.* – 2007. – Vol. 144. – P. 575–581.
3. Schüßler A. Schwarzott D., Walker C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution // *Mycol. Res.* – 2001. – Vol. 105. – P. 1413–1297.
4. Provorov N.A., Shtark O.Y., Zhukov V.A. et al. Developmental genetics of plant-microbe symbioses. – NY, USA: Nova Science Publishers, 2010. – 152 p.
5. Brewin N.J. Plant cell wall remodelling in the *Rhizobium*-legume symbiosis // *Crit. Rev. Plant Sci.* – 2004. – Vol. 23. – P. 293–316.
6. Parniske M. Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2008. – Vol. 6. – P. 763–775.
7. Genre A., Bonfante P. Building a mycorrhiza cell: how to reach compatibility between plants and arbuscular mycorrhizal fungi. // *J Plant Interact.* – 2005. Vol. 1. – P. 3–13.
8. Limpens E., Mirabella, R., Fedorova, E. et al. Formation of organelle-like N₂-fixing symbiosomes in legume root nodules is controlled by *DMI2* // *PNAS USA.* – 2005. – Vol. 102. – P. 10375–10380.
9. Limpens E., Ivanov, S., van Esse, W. et al. Medicago N₂-fixing symbiosomes acquire the endocytic identity marker Rab7 but delay the acquisition of vacuolar identity // *Plant Cell.* – 2009. – Vol. 21. – P. 2811–2828.
10. Voroshilova V.A., Demchenko K.N., Brewin N.J. et al. Initiation of a legume nodule with an indeterminate meristem involves proliferating host cells that harbour infection threads // *New Phytol.* – 2009. – Vol. 181. – P. 913–923.
11. Maillet F., Poinso V., André O. et al. Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza // *Nature.* – 2011. – Vol. 469. – P. 58–64.
12. Oldroyd G.E., Downie J.A. Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2008. – Vol. 59. – P. 519–546.
13. Horváth B., Yeun, L. H., Domonkos, A. et al. *Medicago truncatula* IPD3 is a member of the common symbiotic signaling pathway required for rhizobial and mycorrhizal symbioses // *MPMI.* – 2011. – Vol. 24. – P. 1345–1358.
14. Ovchinnikova E., Journet, E. P., Chabaud, M. et al. IPD3 controls the formation of nitrogen-fixing symbiosomes in pea and *Medicago* Spp. // *MPMI.* – 2011. – Vol. 24. – P. 1333–1344.
15. Morzhina E.V., Tsyganov, V.E., Borisov, A.Y. et al. Four developmental stages identified by genetic dissection of pea (*Pisum sativum* L.) root nodule morphogenesis // *Plant Science.* – 2000. – Vol. 155. – P. 75–83.
16. Borisov A.Y., Barmicheva, E.M., Jakobi, L.M. et al. Pea (*Pisum sativum* L.) mendelian genes controlling development of nitrogen-fixing nodules and arbuscular mycorrhiza // *Czech J. Genet. Plant Breed.* – 2000. – Vol. 36. – P. 106–110.
17. Engvild K.C. Nodulation and nitrogen fixation mutants of pea, *Pisum sativum* // *Theor Appl Genet.* – 1987. – Vol. 74. – P. 711–713.
18. Geurts R., Heidstra, R., Hadri, A.E. et al. *Sym2* of pea is involved in a nodulation factor-perception mechanism that controls the infection process in the epidermis // *Plant Physiol.* – 1997. – Vol. 115. – P. 351–359.
19. Borisov A.Y., Rozov, S.M., Tsyganov, V.E. et al. Sequential functioning of *Sym13* and *Sym31*, two genes affecting symbiosome development in root nodules of pea (*Pisum sativum* L.) // *Mol. Gen. Genet.* – 1997. – Vol. 254. – P. 592–598.
20. Demchenko K., Winzer, T., Stougaard, J. et al. Distinct roles of *Lotus japonicus* SYMRK and SYM15 in root colonization and arbuscule formation // *New Phytol.* – 2004. – Vol. 163. – P. 381–392.
21. Boivin C., Camut, S., Malpica, C. et al. *Rhizobium meliloti* genes encoding catabolism of trigonelline are induced under symbiotic conditions. // *Plant Cell.* – 1990. – Vol. 2. – P. 1157–1170.
22. Ovchinnikova E. Genetic analysis of symbiosome formation // PhD thesis, Wageningen, The Netherlands, 2012.
23. Trouvelot A., Kough, J.L., Gianinazzi-Pearson V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle / Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. (eds.) *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae.* – INRA, Paris, 1986. – P. 217–221.
24. Vierheilig H., Coughlan, A.P., Wyss, U. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1998. – Vol. 64. – P. 5004–5007.
25. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // *Plant Mol. Biol.* – 1985. – Vol. 5. – P. 69–76.
26. Markmann K., Parniske M. Evolution of root endosymbiosis with bacteria: how novel are nodules? // *Trends Plant Sci.* – 2009. – Vol. 14. – P. 77–86.
27. Kistner C., Winzer T., Pitzschke A. et al. Seven *Lotus japonicus* genes required for transcriptional reprogramming of the root during fungal and bacterial symbiosis // *Plant Cell.* – 2005. – Vol. 17. – P. 2217–2229.

SHTARK O.Y.¹, OVCHINNIKOVA E.S.¹, LIMPENS E.², ZHUKOV V.A.¹,
BORISOV A.Y.¹, FEDOROVA E.E.², BISSELING T.², TIKHONOVICH I.A.¹

¹ All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology

St.-Petersburg, Pushkin, Podbelskogo sh., 3, e-mail: oshtark@yandex.ru

² Wageningen University, Laboratory of Molecular Biology

The Netherlands, Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB

NEW DATA ON THE ROLE OF LRR-RECEPTOR KINASE SYM19 DURING LEGUME-RHIZOBIA SYMBIOSIS AND ARBUSCULAR MYCORRHIZA FORMATION

Aims. This study was aimed to identify a role of regulatory symbiotic gene presented by a pea (*Pisum sativum* L.) mutant allele *sym41* in nodule and arbuscular mycorrhiza (AM) development. **Methods.** Light microscopy, synteny-based mapping, RT-PCR, and complementation analyses were used. **Results.** AM fungal colonization was shown to be impaired at the epidermis whereas arbuscule formation in the cortex was not affected. Rhizobial infection and symbiosome formation were most strongly affected in apical nodule meristem-derived cells. The gene *Sym41* was revealed to encode the common symbiotic LRR-receptor kinase SYM19. The mutation in *sym41* causes a strong reduction (~90 %) of wild-type transcript levels in the mutant. **Conclusions.** A novel essential role for SYM19 in symbiosome differentiation was revealed. A higher demand for SYM19 levels was suggested for microbial infection of cells of apical meristem/epidermis than of primordium/cortex.

Key words: *Pisum sativum* L., legume-rhizobia symbiosis, arbuscular mycorrhiza, LRR-receptor kinase.

АРТЕМЧУК І.П.

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України
Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: artemchuk@ifrg.kiev.ua*

ЕФЕКТИВНІСТЬ МУТАГЕННИХ ЧИННИКІВ У ІНДУКУВАННІ ПРАКТИЧНО-ЦІННИХ МУТАЦІЙ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

З кожним роком методи селекції все більше удосконалюються. Великих прикладних успіхів в селекції досягли генна, клітинна та хромосомна інженерія. Але паралельно йде удосконалення традиційних методів селекції. В сучасних умовах експериментальний мутагенез залишається одним з актуальних методів генетичного поліпшення культурних рослин, зокрема озимої пшениці. Кількість сортів різних культур, створених цим методом, в світі зростає і на сьогоднішній день перевищила 3000. Динаміка зростання залишається позитивною, особливо в таких країнах, як Китай, Індія, Голландія, Японія, США. Експериментальний мутагенез з успіхом використовують для отримання нових ознак, що ще не мають аналогів серед вже існуючого селекційного матеріалу, для усунення негативної кореляції між господарсько-цінними ознаками, в функціональній геноміці. Майбутні досягнення в генетичному поліпшенні сільськогосподарських рослин, зокрема озимої пшениці, залежать значною мірою від розкриття молекулярних механізмів мутаційного процесу, пізнання

Матеріали і методи

Досліди проводились у Дослідному сільськогосподарському виробництві Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (смт Глеваха Васильківського району Київської області), зона Лісостеп – Полісся. Вихідним матеріалом було насіння мутантних сортів та ліній та гібридів озимої м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.). Застосовували метод дії мутагенних чинників на насіння шляхом гамма-опромінення та замочування у водних розчинах хімічних мутагенів з подальшим вивченням частоти і спектру мутацій в поколіннях M_1 – M_3 та вивченням отриманих селекційних ліній в

Результати та обговорення

Індикатором дії мутагенів при визначенні впливу експозицій та концентрацій на рослини

генетичної природи мутацій, що наблизить людство до розкриття суті спадкової мінливості і шляхів керування нею.

Пріоритетним напрямком залишається створення вихідного матеріалу для селекції з поліпшеними господарсько-цінними ознаками, такими як підвищена продуктивність, скоростиглість, стійкість до хвороб, модифікації хімічного складу. Надзвичайно актуальним на сучасному етапі є пошук методичних підходів підвищення частоти і розширення спектру мутацій, можливостей одержання з високою частотою мутацій з господарсько та селекційно-цінними ознаками. В зв'язку з цим метою нашої роботи було встановити оптимальні дози, експозиції, концентрації мутагенів для індукування з найвищою частотою практично-цінних мутацій, розробити методи підвищення частоти та розширення спектра індукованих мутацій озимої пшениці, а також вивчити специфічність дії окремих мутагенів в індукуванні мутантів з господарсько-цінними ознаками.

селекційних розсадниках за загально прийнятою схемою. Використані такі концентрації розчинів мутагенів: НЕС – 0,0375, 0,025, 0,0125 %, НМС – 0,02, 0,01, 0,005 %, НДМС – 0,03, 0,02, 0,01 %, НМБ – 0,05, 0,025, 0,01 %, ДЕС – 0,05, 0,025, 0,0125 %, ДМС – 0,3, 0,05, 0,025 %, ЕІ – 0,06, 0,02, 0,01 % та експозиції 12,18 та 24 години, а також гамма-промені в дозах 50, 100, 200 Гр. Математичну обробку одержаних результатів проводили за методом дисперсійного аналізу. Достовірність різниці між середніми дослідних варіантів і контролем оцінювали за критеріями Стюдента та Фішера.

M_1 є схожість та виживання рослин. Підтверджено зворотний зв'язок між експози-

цією, дозою (концентрацією) та схожістю і виживанням рослин. В залежності від дози мутагени виявляли стимулюючу або пригнічуючу дію на ріст і розвиток рослин M_1 . За результатами структурного аналізу та виживанню в M_1 критичними дозами в наших дослідженнях визначені НЕС 0,0375 %, НМС 0,02 %, НДМС 0,03 %, НМБ 0,025 та 0,01 %, ДЕС 0,05 %, ЕІ 0,02 %, ДМС 0,3 та 0,05 %, оптимальними НЕС 0,025 %, НМС 0,01 %, ДЕС 0,01 %, ДМС 0,025 %, стимулюючий ефект на елементи структури урожаю відмічено при дії НЕС 0,0125 %.

Тривалі експозиції дії мутагенів (24 години) суттєво знижували показники росту і розвитку та показники елементів структури урожаю рослин в M_1 : кількість продуктивних стебел, кількість та маса зерен у головному колосі, маса 1000 зерен. Високі концентрації мутагенів також головним чином знижували показники елементів структури урожаю. За таких доз встановлено тісну кореляційну залежність між елементами продуктивності в M_1 на рівні 0,71 – 0,93 між такими елементами структури урожаю: кількістю зерен в головному колосі і маса зерна з рослини, маса зерна з рослини і маса 1000 зерен, довжина головного колоса і маса зерна з рослини, довжина головного колоса і кількість зерен в ньому. Низькі концентрації мутагенів в M_1 , за нашими даними, суттєво не впливали на показники елементів структури урожаю, лише на висоту рослин. За таких концентрацій нами не встановлено статистично достовірних кореляційних зв'язків між елементами структури урожаю. Таким чином, тільки високі дози мутагенів суттєво впливають на зниження показників продуктивності рослин в M_1 .

Головним та об'єктивним показником ефективності дії мутагенів є частота і спектр мутацій в поколіннях M_2 – M_3 та наступних поколіннях. В більшості досліджених варіантів не виявлено статистично достовірної різниці по загальній частоті мутацій між експозиціями 24 та 18 годин, спостерігалась лише тенденція до збільшення загальної частоти мутацій при вищій експозиції. А отже, на нашу думку, доцільніше використовувати нижчу експозицію для індукування високої загальної частоти мутацій, щоб знизити пошкоджуючу дію мутагену на рослину. За експозиції 12 годин частота видимих мутацій була суттєво нижчою.

В межах однієї експозиції частота мутацій достовірно збільшувалась пропорційно збільшенню концентрації. Так, при експозиції 24

год частота мутацій за дії НЕС змінювалась від 18,2 % до 29,6 % , при експозиції 18 год – від 17,4 % до 27,1 % , а при експозиції 12 год – від 17,1 % до 24,3 % . В більшості випадків суттєвої різниці між частотою таких мутацій при експозиції 12 та 18 годин не виявлено, а в деяких випадках, за найнижчої із застосованих нами концентрацій НЕС, навіть перевищувала частоту практично-цінних мутацій порівняно з частотою за експозиції 18 годин при аналогічній концентрації.

Таким чином, експозицією, що дозволяє оптимально поєднувати найвищу загальну частоту мутацій та найвищу частоту практично-цінних мутацій є експозиція 18 годин. У поєднанні з високими та оптимальними концентраціями мутагенів вона сприяє індуванню видимих мутацій з високою частотою, а у сполученні з низькими концентраціями – збільшенню частоти практично-цінних мутацій.

У результаті наших досліджень виявлена особливість, що мутанти, одержані у варіантах за дії мутагенних чинників з експозиціями 18 та 24 години, характеризувались змінами по декількох ознаках і є макромутантами, а одержані при дії мутагенних чинників за експозиції 12 годин – переважно мікрмутанти. Так, за експозиції 24 години нами отримані лінії 1203-1 з безостим крупним загостреним колосом, лінія 1203-15 – напівостиста, низькоросла з довгим колосом, при експозиції 18 годин - лінія 1205-6 – безоста, низькоросла, пізня, продуктивна. Ефективність цієї експозиції підтверджена нами в подальшій роботі і використана при створенні нових сортів озимої пшениці: Сонечко, Почайвка, Солоха, Наталка, Хоревиця, Каланча, Золотоношка, Полтавка, що пройшли державне випробування і занесені до Державного реєстру сортів рослин, придатних для вирощування в Україні або ж зараз проходять державне випробування.

Концентрація мутагену, як і експозиція, впливає на загальну частоту мутацій. При збільшенні концентрації мутагенів вона підвищується. Серед широкого спектру вивчених нами мутагенів і їх концентрацій максимальна загальна частота мутацій виявлена за дії мутагенів у найвищих концентраціях. Найбільше мутацій у вивчених нами генотипів озимої пшениці індукував НМБ в найвищих концентраціях. Максимальна частота спадкових змін за дії цього мутагену становила 30 %. Решта мутагенів, залучених нами до вивчення, за генетичною активністю представляє собою

наступний ряд: ДЕС (19,8–30 %), ЕІ (24–27,5 %), ДМС (19,3–26,9 %), НМС (6,1–20 %) та НДМС (19,4–23,6 %). Коефіцієнт кореляції між концентрацією мутагенів і частотою мутацій для всіх вивчених в досліді мутагенів склав 0,85–0,99. Найнижчий показник загальної частоти мутацій отримано за дії мутагенів в низьких концентраціях.

Застосування мутагенів у високих концентраціях суттєво підвищувало частоту появи макромутантів, а в низьких – переважно мікрмутантів. Так, нами отримано продуктивну напівкарликову лінію 1210-6 з компактним колосом при дії НДМС в концентрації 0,03 %, середньостиглу безосту лінію 1223-2 із скверхедним колосом при дії НДМС в концентрації 0,05 %.

Встановлено зворотну залежність між концентрацією мутагенів та частотою практично-цінних мутацій: по мірі зниження концентрацій мутагенів зростає частка практично-цінних мутацій у загальній їх частоті та розширюється їх спектр. Коефіцієнт кореляції між цими показниками становив -0,8 – -0,96, а отже, максимальну частоту практично-цінних форм отримано при низьких концентраціях. Їх частка у загальному спектрі мутацій в залежності від природи мутагенного чинника становила 25,9–57,3 %. Виділені нами практично-цінні мутації при використанні хімічних мутагенів у низьких концентраціях були використані при створенні нових сортів озимої пшениці: Яворина, Чорнява, Наталка, Чигиринка, Стоколоса, що пройшли або

Висновки

Проведені нами дослідження дозволяють зробити висновок про доцільність застосування помірних доз та концентрацій мутагенів, які сприяють виживанню рослин в M_1 на рівні 60–75 % та індукують досить високу частку практично-цінних мутацій в загальному спектрі. Такий підбір концентрацій дозволяє повною мірою реалізувати потенціал генотипу, що

проходять державне випробування і показують високі результати по продуктивності та іншим господарсько-цінним ознакам.

Нами виявлена специфічність дії окремих мутагенних чинників та їх доз в індукуванні мутацій певних типів. Так, за дії високих концентрацій нітросполуки з високою частотою (0,6–5,8 %) індукували появу низькостеблових форм, в тому числі і карликів, що не були виявлені у варіантах обробок даними мутагенними чинниками в низьких концентраціях мутагенів. За дії низьких концентрацій частіше з'являлись високорослі рослини. Так, з частотою 5,8–6,9 % вони виділені за дії ДМС 0,025 % та 2,1–3,6 % за дії ДЕС 0,0125 %. Пізньостиглі мутанти також з більшою частотою виділені за дії високих концентрацій мутагенів. Ранньостиглі мутанти частіше з'являлися за дії нітросполук у низьких концентраціях.

Таким чином, при збільшенні концентрації мутагенів зростає загальна частота мутацій і зменшується частота селекційно-цінних мутацій. Застосування мутагенних чинників у високих концентраціях суттєво підвищує частоту появи макромутантів, що часто не мають селекційної цінності. А отже, нами доведено доцільність застосування в селекційних програмах помірних концентрацій мутагенів, що індукують більше практично-цінних мутацій. Виявлена специфічність дії окремих мутагенних чинників, груп мутагенів та доз в індукуванні мутацій певних типів.

досліджується, і можливості експериментального мутагенезу в генетичному поліпшенні рослин. Ефективність такого добору доз мутагенів підтверджена великою кількістю створених практично-цінних ліній та сортів, що пройшли або проходять державне випробування і показують високі результати.

Література

1. Моргун В.В., Логвиненко В.Ф. Мутаційна селекція озимої пшениці // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть – К.: Логос, 2001. – Т.2. – С. 175–186.
2. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2012 році. Мінагрополітики України. Державна служба з охорони прав на сорти рослин. – Витяг станом на 20.01.2012. – К.: ТОВ «Алефа», 2012. – 503 с.
3. S. Mohan Jain Mutagenesis in crop improvement under the climate change // Plant Cell. Tissue and Organ. Culture. – 2010. – Vol. 65, №3. – P.175–177.

ARTEMCHUK I.P.

*Institute of Plant Physiology and Genetics of National Academy of Science of Ukraine
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasilkivska str., 31/17, e-mail: artemchuk@ifrg.kiev.ua*

THE EFFECT OF MUTAGENIC AGENTS TO INDUCE PRACTICALLY VALUABLE MUTATIONS OF WINTER WHEAT

Aims. We are present the results of the development of methods for enhancing the frequency and widening the spectrum of induced mutations of winter wheat under the influence of gamma-rays and chemical mutagens according to doses, concentrations, expositions of an effect on seeds and the formation of ears of a particular order in ontogenesis. **Methods.** The effect of mutagenic agents in different doses and concentrations impact on air-dry the seeds on the induction of mutations of winter wheat were investigated. **Results.** The overall frequency, the frequency of practically valuable mutations and their spectrum was designed. **Conclusions.** It is proved the expediency of use of moderate doses and concentrations of mutagens, which ensure the survival of plants in the generation of M_1 at the level of 60–75 % for induced a high frequency of practically valuable mutations.

Key words: winter wheat, dose, frequency of mutations, practically valuable mutations.

АСАДОВ Ш.И., ГУСЕЙНОВА Л.А., АБДУЛАЛИЕВА Г.С., ЮНУСОВА Ф.М.

*Институт Генетических Ресурсов НАН Азербайджана
Азербайджан, г. Баку, пр. Азадлыг, 155, e-mail: milla-alesker@mail.ru*

СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ХЛОПЧАТНИКА И МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОТБОРА

Развитие отрасли хлопководства нуждается в создании и внедрении в производство новых сортов хлопчатника, сочетающих высокие параметры комплекса хозяйственно важных признаков. Разрешение этой проблемы во многом зависит от применяемого метода селекционной работы и подбора исходного материала.

Генетическое разнообразие, которое было обеспечено с помощью традиционных методов селекции, еще не достигло своего предела. Поэтому дальнейшее выявление и расширение спектра качественного изменения растений является необходимым.

При обычном межвидовом скрещивании большинство гибридных растений не содержат желаемых сочетаний признаков родителей. Когда же гибриды дополнительно подвергаются мутагенной обработке, то вступают в действие совершенно новые источники, увеличивающие спектр мутаций и частоту появления положительных форм. В результате гибридизации гексаплоидных амфидиплоидов с промышленными сортами с последующей обработкой химическими мутагенами и γ -облучением созданы сложные по своей генетической природе сорта хлопчатника Диёр и АН-16 [1].

Метод экспериментального мутагенеза в сочетании с внутривидовой и межвидовой гиб-

ридизацией, все шире используется в теоретических исследованиях и в практической работе по выведению более скороспелых, высокомасличных с заданным качеством волокна сортов хлопчатника интенсивного типа [2].

Исследование интрогрессивных линий генетической коллекции хлопчатника вида *Gossypium hirsutum* L., созданных методом сложной межвидовой гибридизации и мутагенеза, способствовало отбору уникальных биотипов с благоприятным сочетанием важных признаков [3, 4]. Общей чертой изученных линий была положительная корреляция средней степени между длиной и крепостью волокна. Учитывая при этом положительную корреляцию между крепостью волокна и тониной линии Л-608/1 и Л-620, рекомендованы в качестве перспективных для дальнейших исследований.

Для улучшения хозяйственно важных признаков у промышленных сортов хлопчатника, предусматривалось привлечение в гибридизацию мутантных линий и селекционных сортов, выведенных другими методами. В результате лучшие мутантные линии и сорта, характеризующиеся качеством волокна IV типа, высоким выходом волокна и другими положительными признаками, рекомендованы для испытания в Госсортосети [5].

Повысить уровень генетической изменчивости сортов вида *G. hirsutum* можно посредством межгеномного отдаленного скрещивания и химического мутагенеза. Выявлено несколько многообещающих мутантов с прочным волокном, высокой урожайностью и устойчивостью к вилту [6, 7].

Учитывая то, что сочетание методов гибридизации и экспериментального мутагенеза

Материалы и методы

Исходным материалом для данного исследования послужили сорта и формы хлопчатника вида *G. hirsutum* из коллекции Института Генетических Ресурсов АН Азербайджанской Республики. Работа проводилась поэтапно. Сначала семена родительских форм обрабатывались физическими и химическими мутагенами с целью получения многочисленных мутантов с различным сочетанием признаков и свойств волокна. В результате изучения изменчивости признаков и многократных отборов были выделены мутантные формы с высокими показателями качества волокна. Второй этап включал два направления: гибридизацию мутантов с альтернативными признаками между собой и мутантов с другими сортами для объединения в новых генотипах

Результаты и обсуждение

Одним из главных критериев при оценке качества сортов хлопчатника является длина волокна. Из приведенных на рис. 1 данных видно, что штапельная длина волокна почти у всех перспективных сортов выше, чем у стандарта. Наиболее высокие показатели имеют сорта Агдаш-22 ($34,1 \pm 0,45$ мм) и AP-350 ($34,1 \pm 0,38$ мм), которые достоверно ($p < 0,05$) превышают стандартный сорт AP-317 с показателем $32,4 \pm 0,20$ мм. Вычисление коэффициентов изменчивости (CV) по длине волокна показало, что величина их невысокая. Самый низкий процент (3,9 %) отмечен у стандарта AP-317, а самый высокий (5,7 %) – у перспективного сорта Агдаш-22.

Сравнительная характеристика сортов по другому важному качественному признаку – разрывной нагрузке волокна показала, что все перспективные сорта, в той или иной степени, превосходят стандарт (рис. 2). Причем, три сорта обладают одинаково высоким показателем (5,0 гс), который значительно превосходит уровень стандартного сорта AP-317 (4,1 гс). Разница в 0,9 гс для разрывной нагрузки является значительной и высоко достоверной, если учесть, что нормой для тетраплоидных сортов хлопчатника

является эффективным механизмом расширения диапазона генетического разнообразия, целью настоящего исследования являлось комплексное изучение мутантов и гибридов мутантного происхождения по основным селекционно-важным признакам, а также выделение константных форм, имеющих практическое и теоретическое значение.

недостающих признаков, а также ускорения процесса их стабилизации. По каждой комбинации скрещивания изучали 30 растений в 4-кратной повторности, на которых проводили гибридологический анализ. Для каждого среднего арифметического значения определяли ошибку ($X \pm Sx$), среднее квадратичное отклонение (s), коэффициент вариации (CV). Генетически чистые линии, пройдя все этапы селекционного процесса, доведены до конкурсного сортоиспытания, где в качестве стандарта использовали районированный сорт AP-317.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда Развития Науки при Президенте Азербайджанской Республики – Грант №ЕЭФ-2010-1(1)-40/23/3.

является 4,6–4,7 гс. Коэффициенты вариации по разрывной нагрузке у перспективных сортов низкие и находятся в диапазоне 5–6,4 %. У стандарта коэффициент вариации еще ниже – 4,4 %.

Среди показателей, определяющих технологическую ценность сортов хлопчатника, является и линейная плотность, или толщина волокна. Линейная плотность в полной мере зависит от количества накопленной клетчатки в волокне. Чем меньше показатель, тем меньше диаметр волокна. Результаты наших исследований выявили, что самым тонким волокном ($165 \pm 2,0$ мтекс) обладает перспективный сорт AP-350 и стандартный сорт AP-315 с показателем $175 \pm 3,0$ мтекс (табл. 3). Следует заметить, что показатели разрывной нагрузки волокна у этих сортов, также самые низкие (рис. 2). Вероятно, это связано с известной отрицательной корреляцией между этими признаками. Показатели остальных перспективных сортов находятся в диапазоне $187 \pm 3,4$ – $190 \pm 4,0$ мтекс.

Анализ данных, характеризующих относительную разрывную нагрузку волокна (рис. 4), показал, что 3 перспективных сорта из 5 изученных достоверно (при 5 %-ном уровне против

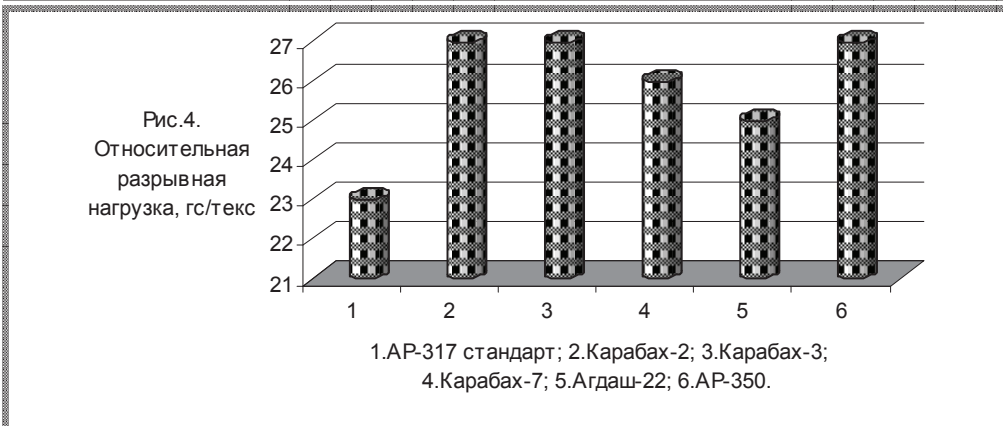
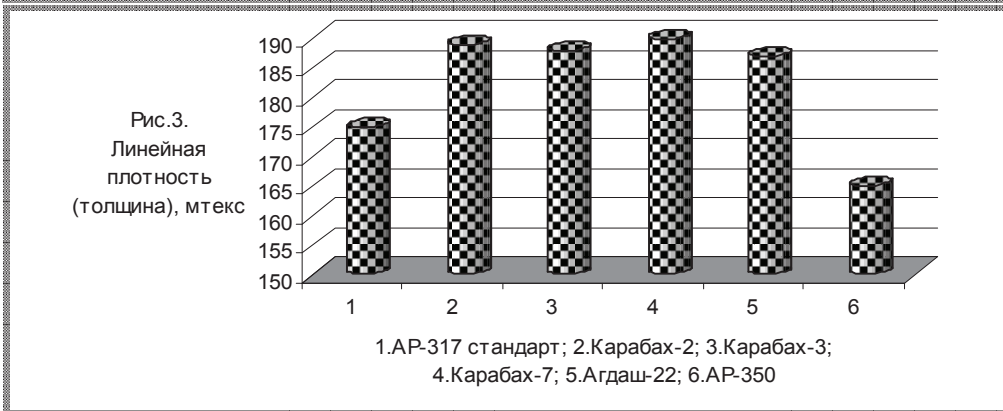
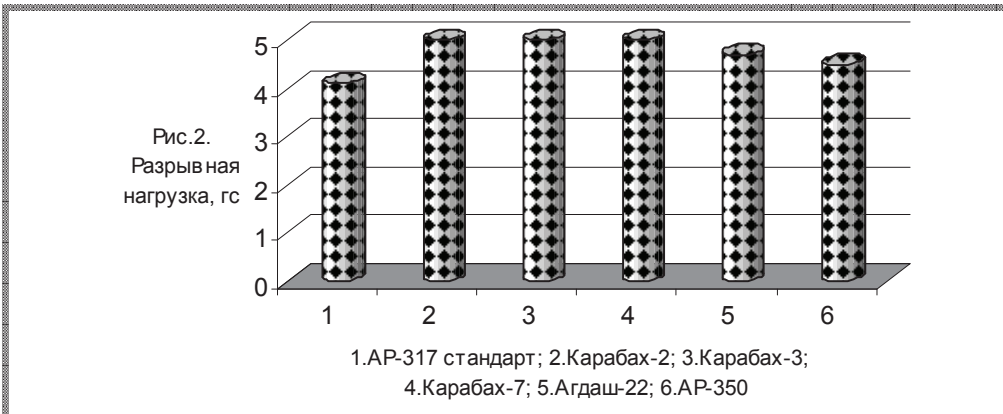
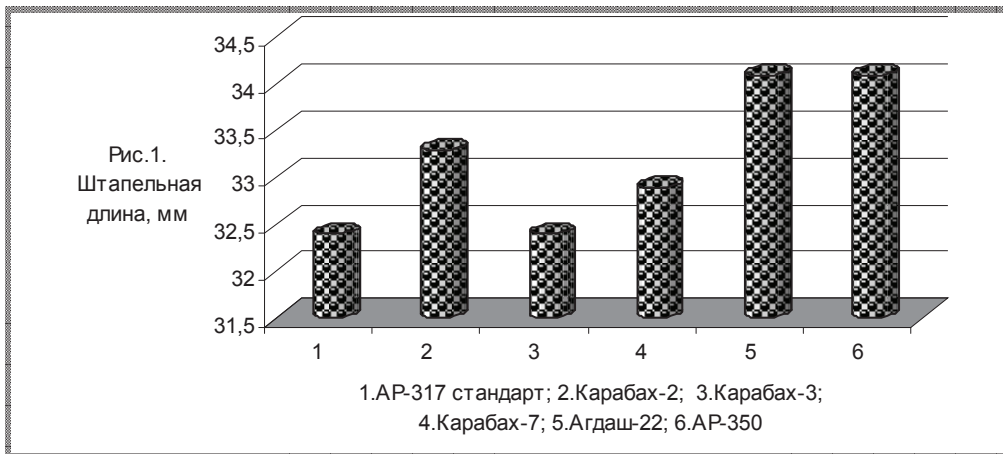


Рис. 1–4. Качественные признаки волокна перспективных сортов хлопчатника

значимости) превосходят стандартный сорт AP-317, то есть 27 гс/текс $23 \pm 0,6$ гс/текс. Коэффициент вариации этого признака варьирует от 4,8 % у сорта Агдаш-22 до 8,5 % – у сорта AP-350.

Чтобы перспективный сорт приобрел особую значимость необходимо, наряду с качеством волокна, знать его потенциальные возможности на продуктивность. В таблице приводятся урожайные данные изучаемых сортов.

Масса хлопка-сырца одной коробочки является составным элементом продуктивности. Из данных таблицы видно, что лишь один сорт – Карабах-3 достоверно превосходит стандарт AP-317 с показателями $6,2 \pm 0,12$ г против $5,7 \pm 0,10$ г. Определение коэффициента вариации, как меры изменчивости массы коробочки, показало, что

наименьший уровень варьирования (7,5 %) имеет перспективный сорт AP-350, а наибольший (11,5 %) – сорт Карабах-2. Сопоставляя показатели сортов по урожаю хлопка-сырца, можно наблюдать резкие различия, как между перспективными сортами, так и между перспективными сортами и стандартом.

Показатели таблицы свидетельствуют, что средний урожай по четырем повторностям у сортов Карабах-2 и Агдаш-22 равен $29,5 \pm 0,85$ и $29,2 \pm 1,00$ ц/га соответственно, тогда как у стандартного сорта AP-317 урожай составил $23,4 \pm 0,65$ ц/га. Разница в 6,1 и 5,8 ц/га является достоверной с доверительной вероятностью 0,01.

Таблица. Продуктивность перспективных сортов хлопчатника по результатам конкурсного сортоиспытания

Статистический параметр	Перспективный сорт					
	AP-317, стандарт	Карабах-2	Карабах-3	Карабах-7	Агдаш-22	AP-350
	Масса одной коробочки, г					
$X \pm S_x$	$5,7 \pm 0,10$	$5,2 \pm 0,19$	$6,2 \pm 0,12^*$	$5,3 \pm 0,04$	$5,5 \pm 0,15$	$5,6 \pm 0,09$
Стандартное отклонение, (s)	0,52	0,60	0,63	0,45	0,55	0,42
Коэффициент вариации, (CV %)	9,2	11,5	10,2	8,5	10,0	7,5
	Урожай хлопка-сырца, ц/га					
$X \pm S_x$	$23,4 \pm 0,65$	$29,5 \pm 0,85^{**}$	$26,7 \pm 0,65^*$	$24,9 \pm 0,40$	$29,2 \pm 1,00^{**}$	$25,3 \pm 0,55$
Стандартное отклонение, (s)	2,84	3,90	3,75	2,60	4,30	2,85
Коэффициент вариации, (CV %)	12,1	13,2	14,0	10,4	14,7	11,3

Примечание. * – различия достоверны при $p < 0,05$; ** – при $p < 0,01$.

Из данных таблицы следует, что не всегда сорта, имеющие высокие показатели массы коробочки отличаются повышенной продуктивностью. Следовательно, важную роль в формировании урожая надо отдать другому компоненту – количеству коробочек на одно растение. Коэффициент вариации по урожаю находится в диапазоне 10,4–14,7 %, что указывает на однородность изучаемых сортов.

Характерно отметить, что идеальных сор-

тов хлопчатника пока не выведено и, запрашивать проявления в максимальном выражении всех признаков в одном сорте нецелесообразно. Поэтому перспективные сорта Карабах-2, Карабах-3 и Агдаш-22 по совокупности качественных признаков и урожайных данных конкурсного испытания рекомендованы для передачи в Государственную Комиссию Азербайджана по сортоиспытанию.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда развития науки при Президенте Азербайджана – грант № EЭF-2010-1 (1) -40/23/3.

Литература

- Иргашева Д.У. Использование диких видов хлопчатника в генетико-селекционных исследованиях // Республиканская научно-практическая конференция «Сохранение и устойчивое использование биоразнообразия

- сельскохозяйственных культур и их диких сородичей». – Ташкент. – 2009.
2. Мусаев Д.А. Генетический анализ признаков хлопчатника / Монография. – Ташкент. – 2005.
 3. Мусаев Д.А., Саидкаримов А.Т., Закиров С.А., Мусаева С., Фатхуллаева Г.Н. Генетические предпосылки создания интрогрессивных линий хлопчатника *G. hirsutum* L. – синтетических доноров высокой урожайности и качества волокна, а также устойчивости к вилтовому заболеванию // Докл. Акад. Наук Респ. Узбекистан. – №1. – 2006. – С. 89–73.
 4. Саидкаримов А.Т. Взаимная корреляция признаков технологического качества волокна интрогрессивных линий генетической коллекции хлопчатника *Gossypium hirsutum* L. // Материалы конференции, посвященной 120-й годовщине со дня рождения академика Н.И. Вавилова. – Саратов. – Ч. I. – 2007. – С. 51–52.
 5. Султанов К.Д. Улучшение промышленных сортов хлопчатника (*G. hirsutum* L.) под воздействием ионизирующей радиации // Дисс. канд. с-х наук. – Ташкент. – 1984.
 6. Ахмедов Х.А., Филатова Р.С., Икрамов А.А. <http://www.cabdirect.org/search.html?q=au%3A%22Ikramov%2C+A.+A.%22> Метод экспериментального мутагенеза в генетическом изучении хлопчатника // Ж. Вестник сельскохозяйственной науки. – Москва. – № 7. – 1990. – С. 124–127.
 7. Gutierrez O.A., Basu S., Saha S., Jenkins J.N., Shoemaker D.B., Cheatham C.L., McCarty Jr., J.C. Genetic distance among selected cotton genotypes and its relationship with F₂ performance // Crop Science. – 42:1. – 2002. – P. 841–1847.

ASADOV SH.I., HUSEYNOVA L.A., ABDULALIEVA G.S., YUNUSOVA F.M.

Institute of Genetic Resources NAS of Azerbaijan

Azerbaijan, Baku, avenue Azadlyg, 155, e-mail: milla-alesker@mail.ru

SELECTION-GENETIC STUDYING ECONOMICSIGNS OF THE COTTON AND THE METHODS OF INCREASE OF EFFICIENCY OF CHOICE

Aims. Studying of mutants of a cotton and hybrids of a mutant origin to the important signs, and also allocation of the constant forms having practical and theoretical value. **Methods.** As object of research grades of a cotton of variety *Gossypium hirsutum* L. served from a collection of Institute of Genetic Resources NAS of Azerbaijan. For expansion of a range of a genetic variety research spent to two stages: at first used experimental mutagenesis for reception of mutants, then mutants with alternative signs included in hybridization. **Results.** Genetically pure lines, having passed all stages of selection process, are finished to competitive test. The tentative estimation of a studied selection material in competitive nursery has allowed to reveal perspective grades Карабах-2, Карабах-3 and Агдаш-22, characterised by a complex set of positive signs. **Conclusions.** The perspective grades, successfully passed competitive test, are transferred for check in the State Commission of Azerbaijan.

Key words: a cotton, mutagenesis, hybridization, quality of a fiber, efficiency, creation of grades.

БАТУРИН С.О., КУЗНЕЦОВА Л.Л.

Институт цитологии и генетики СО РАН

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

СЕГРЕГАЦИЯ ПРИЗНАКА «ОКРАСКА ВЕНЧИКА» В ИНБРЕДНЫХ ПОТОМСТВАХ РОЗОВОЦВЕТКОВОЙ КРУПНОПЛОДНОЙ ЗЕМЛЯНИКИ (*FRAGARIA* × *ANANASSA DUCH.*)

Появление розовоцветковых сортов в сортименте крупноплодной земляники *Fragaria* × *ananassa Duch.* ($2n = 8x = 56$) произошло достаточно спонтанно, в результате удачных экспериментов J. Ellis (1962) по межродовому скрещиванию садовой земляники *F.* × *ananassa* ($2n = 8x = 56$) и лапчатки болотной *Potentilla palustris* L. (*Comarum palustre* (L.) Scop.) ($2n = 6x = 42$), имеющей лепестки бордового цвета. Ми-

ровой сортимент земляники с розовыми цветками насчитывает около 30 сортов и гибридов. Все они находят исключительно декоративное применение и не способны давать высокий урожай с приемлемыми вкусовыми качествами ягод [9]. Именно поэтому в селекционной работе с розовоцветковой земляникой наиболее важной является задача повышения продуктивности и улучшения качества ягод. Одним из перспективных

направлений селекции крупноплодной земляники стало создание розовоцветковых сортов с ремонтантным типом плодоношения, которые имели бы ценность не только как декоративные, но и как ягодные культуры [8, 5]. Именно это двойное назначение делает розовоцветковые сорта земляники особо привлекательными для использования в садоводстве, хотя их создание затруднено последствиями межродового происхождения, такими как повышенная женская стерильность, приводящая к развитию деформированных плодов, гибель проростков и ювенильных растений при семенной репродукции [2, 3]. Проведенное в связи с этим изучение соматического числа хромосом некоторых розовоцветко-

вых сортов показало наряду с ожидаемым октоплоидным состоянием (сортообразец F₁ С141) [3], наличие миксоплоидии (сорт Пинк Панда), нарушающей процесс формирования гамет [2]. Отсутствие понимания характера наследования нового для октоплоидной крупноплодной земляники признака «розовая окраска венчика» делает работу селекционеров скорее поисково-экспериментаторской, чем планомерной, базирующейся на прогнозируемых результатах скрещиваний. Именно поэтому возникла необходимость проведения данного исследования, целью которого явилось изучение характера наследования розовой окраски венчика в инбредных потомствах *F. × ananassa*.

Материалы и методы

Материалом исследования являлись сеянцы поколений I₁ полученные от коммерческого, розовоцветкового, голландского гибрида F₁ С141 (2n = 8x = 56). В эксперимент были взяты три родительских сеянца F₁ этого селекционного образца: № 61-1 – темно-розовый венчик, регистрационный номер цвета - 15 RHS 63B, согласно мини-атласу цветов Королевского садоводческого общества (Royal Horticultural Society mini color chart); № 61-2 – пурпурный венчик, цвет 19 RHS 67A; № 61-3 – темно-пурпурный венчик, цвет 19 RHS 58A. Предметом исследования яв-

лялось наследование признака «розовая окраска венчика» при самоопылении указанных выше розовоцветковых образцов. Для интерпретации характера сегрегации признака в семенных потомствах использована модель полисомической сегрегации аллелей, основанная на гипергеометрическом распределении частот гамет у автополиплоидов, в частности, у октоплоидной земляники [7, 4]. Частота гамет (q_k) с k доминантными аллелями и (n-k) рецессивными аллелями находится по формуле:

$$q_k = \frac{\binom{2n_1}{k} \binom{2n-2n_1}{n-k}}{\binom{2n}{n}} \quad (1)$$

где 2n – число хроматид в полиплоидной клетке перед началом первого мейотического деления, 2n₁ – число хроматид с доминантным аллелем P, (2n-2n₁) – число хроматид с рецессивным алле-

лем p. К примеру, у октоплоидной гетерозиготы с семью доминантными аллелями (генотип P⁷p¹) распределение генотипов гамет запишется как:

$$\frac{\binom{14}{4} \binom{2}{0} P^4 p^0 + \binom{14}{3} \binom{2}{1} P^3 p^1 + \binom{14}{2} \binom{2}{2} P^2 p^2}{\binom{16}{8}} = 1, \quad (2)$$

Соотношение ауотетраплоидных гамет будет следующим:

$$0,55 P^4 p^0 + 0,40 P^3 p^1 + 0,05 P^2 p^2 = 1 \quad (3)$$

Используя формулу (1) были рассчитаны частоты гамет, образуемых родительскими формами, различающимися по соотношению доминантных и рецессивных аллелей (табл. 1).

Соответствие теоретических и эмпирических частот распределения при оценке сегрегации по признаку «окраска венчика» в семенных

потомствах оценивали при помощи статистического критерия согласия G [10]. В таблицах, представляющих результаты генетического анализа, теоретически ожидаемые частоты определенных фенотипов по окраске венчика обозначены буквой E, а частоты фенотипов, полученные в опыте, обозначены буквой O.

Таблица 1. Ожидаемые частоты аутотетраплоидных гамет у октоплоида при хроматидном типе сегрегации аллелей по локусу, контролирующему розовую окраску венчика у *F. × ananassa*

Родительский генотип	Частоты гамет				
	$P^0 p^4$	$P^1 p^3$	$P^2 p^2$	$P^3 p^1$	$P^4 p^0$
$P^0 p^8$	1,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
$P^1 p^7$	0,5500	0,4000	0,0500	0,0000	0,0000
$P^2 p^6$	0,2720	0,4835	0,2176	0,0264	0,0005
$P^3 p^5$	0,1154	0,3956	0,3709	0,1099	0,0082
$P^4 p^4$	0,0385	0,2462	0,4306	0,2462	0,0385
$P^5 p^3$	0,0082	0,1099	0,3709	0,3956	0,1154
$P^6 p^2$	0,0005	0,0264	0,2176	0,4835	0,2720
$P^7 p^1$	0,0000	0,0000	0,0500	0,4000	0,5500
$P^8 p^0$	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000

Результаты и обсуждение

Изучение наследования розовой окраски венчика в потомствах от самоопыления было проведено на трех розовоцветковых образцах: № 61-1, № 61-2 и № 61-3 из F_1 С141. В целом было проанализировано 138 семян среди которых выявлена изменчивость интенсивности окраски венчика от светло-розовой до бордовой. Согласно рабочей гипотезе, чем больше доминантных аллелей содержит в себе генотип родительской

формы, тем больше доля растений с темноокрашенными венчиками в инбредном потомстве. Интенсивность окраски зависит от числа доминантных аллелей, контролирующих синтез антоцианидинов в лепестках цветка [3]. Данные эксперимента хорошо согласуются с теоретически ожидаемыми (табл. 2). Для наглядности данные таблицы 2 представлены в виде графиков (рис.1).

Таблица 2. Сегрегация по окраске в потомствах I_1 растений гибрида С 141 F_1

Фенотипы по окраске венчика										Всего	G	
Белый	Розовые-жилки	Бледно-розовый	Светло-розовые	Розовые	Темно-розовые	Инт.-розовые	Пурпурные	Бордовые				
№ 61-1 (Генотип $P^4 p^4$)												
О	0	0	8	8	11	7	2	1	0	37	7,26	
Е	0,1	0,7	3,5	8,5	11,4	8,5	3,5	0,7	0,1	37		
№ 61-2 (Генотип $P^5 p^3$)												
О	0	0	1	3	8	12	8	3	0	35	1,56	
Е	0,0	0,1	0,6	3,1	7,9	11,2	8,4	3,2	0,5	35		
№ 61-3 (Генотип $P^6 p^2$)												
О	0	0	0	0	3	16	23	20	4	66	3,22	
Е	0,0	0,0	0,1	0,8	4,8	14,8	23,2	17,4	4,9	66		
$G_{0,05} = 15,5; df = 8$												

Из графика следует, что чем больше доминантных аллелей содержит в себе генотип родительской формы, тем больше доля растений с темноокрашенными венчиками в инбредном потомстве. Следует отметить тот факт, что вероятность появления белоцветкового фенотипа в потомстве от самоопыления растений гибрида F_1 С 141 составляет менее одного процента, т.е. для обнаружения таких фенотипов в потомстве необходима довольно большая выборка инбредных потомков. Полученные в опыте потомства

малочисленны вследствие гибели проростков из-за инбредной депрессии, возможно, поэтому белоцветковых растений в I_1 не было обнаружено.

Согласно модели соотношения частот фенотипов в потомстве при полисомическом характере сегрегации, использование форм с большим количеством доминантных аллелей, позволяет получать в гибридных потомствах однородные по окраске венчика сеянцы. Так, при гибридизации сорт Ruby × № 61-2 были

отобраны растения № 47-3 (пурпурный цвет венчика 14 RHS N57A) и № 47-20 (розовый цвет венчика 13 RHS 55B), которые при скрещивании между собой формируют в потомстве сеянцы

преимущественно с розовыми и темноокрашенными венчиками, среди которых проведен отбор по урожайности и комплексной устойчивости при их вегетативном размножении.

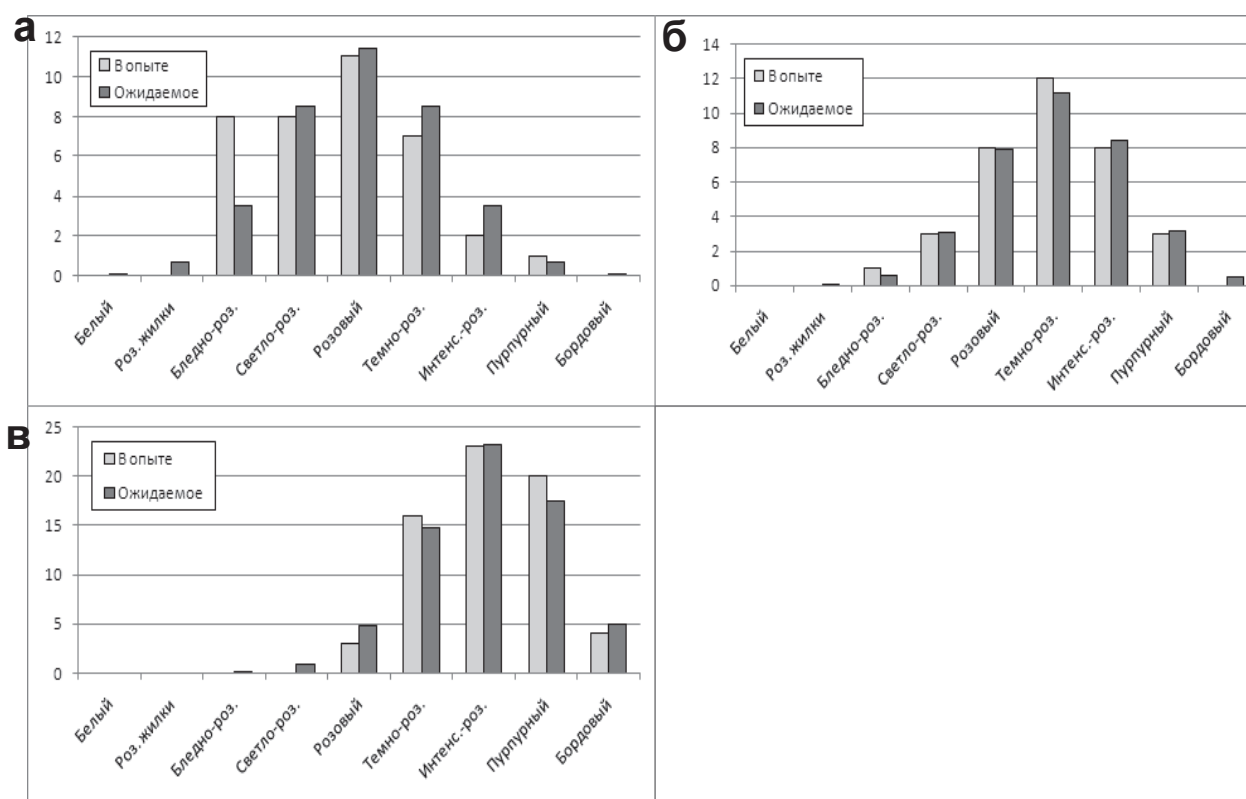


Рис. 1. Соответствие теоретических частот появления различных фенотипов частотам, полученным в опыте при самоопылении: а – № 61-1 (генотип P^4p^4); б – № 61-2 (генотип P^5p^3); в – № 61-3 (генотип P^6p^2)

Отборные гибриды стабильно сохраняют окраску цветков в течение нескольких лет наблюдения. Следует отметить, что при скрещивании образца № 47-3 (P^5p^3) и гибрида F₁ С 141 № 61-3 (P^6p^2) удалось получить в семенном по-

томстве гибридные сеянцы преимущественно с темно-розовыми цветками, что открывает перспективы выделения комбинаций скрещивания для создания розовоцветковых сортов репродуцируемых семенным способом.

Выводы

1. Анализ сегрегации признака «окраска венчика» в инбредном потомстве у розовоцветковых образцов F₁×*ananassa* подтвердил доминантный характер наследования аллеля розовой окраски венчика (P). Аллель наследуется моногенно с полисомическим хроматидным характером сегрегации в инбредном потомстве.

2. Среди розовоцветковых сеянцев инбредного потомства выявлена изменчивость интенсивности окраски венчика от светло-розовой

до бордовой. Интенсивность окраски зависит от числа доминантных аллелей в генотипе.

3. Использование модели моногенного наследования розовой окраски венчика с полисомическим характером сегрегации позволяет прогнозировать долю гибридных сеянцев с желаемой окраской венчика в направленных скрещиваниях, что способствует ведению эффективного отбора по декоративным качествам и продуктивности.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ-13-04-00012.

Литература

1. Батурин С.О., Кузнецова Л.Л. Состояние и перспективы селекции розовоцветковой крупноплодной земляники (*Fragaria x ananassa* Duch.) в Западной Сибири // Вестник ВОГиС. – 2010. – Т. 14, №1. – С. 165-171.
2. Батурин С.О., Кузнецова Л.Л. Репродуктивные особенности и перспективы использования розовоцветкового декоративного гибрида *Fragaria x Potentilla* (сорт Frel) в селекции крупноплодной земляники // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. – Т. 15, №4. – С. 800–807.
3. Кузнецова Л.Л. Наследование признака «розовая окраска венчика» у крупноплодной земляники *Fragaria x ananassa* Duch. Автореф. канд. дисс. Новосибирск. – 2012. – 16 с.
4. Малецкий С.И. Биномиальные распределения в генетических и популяционно-генетических исследованиях на растениях. – Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2000. – С. 28–30.
5. Bentvelsen G., Bouw B. Breeding Ornamental Strawberries // Proc. Vth Int. Strawberry Symposium Acta Horticulturae. – 2006. Vol. 708. – P. 455–457.
6. Ellis J. R. *Fragaria-Potentilla* intergeneric hybridization and evolution in *Fragaria* // Proceedings of Linnean Society of London. – 1962. – Vol. 173. – P. 99–106.
7. Feller W. Introduction to Probability Theory. – 1967. – Vol. 1. – 525 p.
8. Khanizaden Sh. New hardy day-neutral red flowering strawberry cultivars // Acta Horticulturae. – 2000. – N. 538 – P. 779–780.
9. Maberley D.J. *Potentilla* and *Fragaria* (*Rosaceae*) reunited // Telopea. – 2002. – Vol. 9. – P. 793–801.
10. Sokal R.R., Rohlf F.J. Analysis of frequencies. In: Biometry: the principles and practice of statistics in biological research. 3rd edition. Freeman & company. – New York, 1995.

BATURIN S.O., KUZNETSOVA L.L.

*Institute of Cytology and Genetics Siberian Branch of Russian Academy of Sciences
Russia, 630090, Novosibirsk, Lavrentiev Av., 10, e-mail: SO_baturin@mail.ru*

SEGREGATION OF THE «COLOR COROLLA» TRAIT IN INBRED OFFSPRINGS OF PINK FLOWRING GARDEN STRAWBERRY (*FRAGARIA* × *ANANASSA* DUCH.)

Aims. The study of the nature of inheritance pink color corolla in inbred offsprings *F.* × *ananassa*. **Methods.** I_1 generations seedlings obtained from commercial, pink flowering, Dutch hybrid F_1 C141 ($2n = 8x = 56$) were material of the study. The model with chromatid type of gene segregation of alleles based on hypergeometric frequency gametes autopolyploids distribution, in particular, the octoploid strawberry was used for interpretation of the character trait segregation in seed offsprings. **Results.** The variability of corolla color intensity from light pink to deep red was revealed among pink flowering inbred progeny seedlings. The intensity of coloring depends on the number of dominant alleles that control the synthesis of anthocyanidins in the petals of a flower. The experimental data are in good agreement with the theoretically expected. **Conclusions.** Using the model of monogenic inheritance of the «corolla color» trait with chromatid segregation that predicts the share of hybrid seedlings of the desired color of the corolla in directional crossings, thereby maintaining effective selection for the decorative qualities and productivity.

Key words: *Fragaria* × *ananassa*, octosomic inheritance, pink-flowering cultivar, inbreeding, selection.

БІЛЯВСЬКА Л.Г.¹, КОРНЄВА М.О.²

¹ Полтавська державна аграрна академія

Україна, 36003, м. Полтава, вул. Г. Сковороди, 1/3, e-mail: bilyavska@ukr.net

² Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України

Україна, 03141, м. Київ, вул. Клінічна, 25, e-mail: mira31@ukr.net

СТРУКТУРА ГЕНОТИПОВОЇ МІНЛИВОСТІ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК ГІБРИДІВ F_1 СОЇ

Одним із важливих завдань селекції сої є поєднання в одному генотипі комплексу господарсько-цінних ознак, які забезпечують високу продуктивність культури. Проте виконати його можливо за умови знання генетичного контролю господарсько-цінних ознак, свідомо застосову-

ючи при цьому сучасні методи оцінки і добору селекційних зразків. Створення гібридів F_1 , як вихідних форм гібридних популяцій для наступного добору в них трансгресивних форм має бути цілеспрямованим, оскільки високий ефект гетерозису у гібридів сої 1-го покоління за про-

дуктивністю і визначальними її елементами структури врожаю корелює з високим ступенем і частотою трансгресій в наступних поколіннях [1]. Правильну орієнтацію селекційного процесу

Матеріали і методи

Польові дослідження проводили в 2006–2007 рр. на дослідному полі Полтавської державної аграрної академії. Грунт – чорнозем опідзолений, попередник – пшениця озима.

Об'єктом досліджень були гібридні комбінації F_1 від схрещувань сортів різного еколого-географічного походження. Тестерами були сорти Аметист і Алмаз, які найбільш пристосовані до умов Полтавщини. Досліджували п'ять сортів, які за високого рівня урожайності є носіями більш вираженого значення складових елементів продуктивності (кількість бобів, кількість вузлів, кількість насінин, маса 1000 насінин, маса насіння з рослини) – це українські сорти: Агат, Романтика, Краса Поділля, Альтаїр та китайський – Мяо-ян-доу.

Посів гібридного розсадника проводили вручну у першій декаді травня. Ширина міжрядь

Результати та обговорення

Висота рослин сої – кількісна ознака, яка обумовлена як генотиповими, так і паратиповими чинниками. Деякі вчені вважають, що генетичний контроль цієї ознаки, здійснюється однією парою генів Ss і має моногенний характер [6], проте більш пізнішими дослідженнями встановлено полігенний контроль цієї ознаки [7].

У наших дослідженнях значення висоти рослин у міжсортних гібридів на фоні двох тестерів показали значну варіабельність ознаки (76...109 см) при 90 см у стандартного сорту Юг-30 (рис. 1).

Високорослими були гібридні комбінації Агат/ Алмаз (107 см) і Альтаїр/Аметист (109 см), які відхилялися від середньопопуляційного значення відповідно на 21,9 см (23 %) і 13,9 см (або 14,6 %). Ці ж комбінації на 30 і 21,1 % мали відхилення від стандарту Юг-30. Середньорослими були гібриди Краса Поділля/Алмаз (76 см) і Романтика/Алмаз (79 см). Вони були достовірно нижчими від середньої по гібридах на 19 і 16 см, або відповідно на 20,1 і 16,9 %.

Аналіз генотипової структури мінливості показав, що адитивні ефекти генів досліджуваних сортів були більш значущими порівняно із тестерами. Їх внесок оцінювався відповідно у 54,7 і 10,5 %, що свідчить про ефективність до-

на пошук гетерозисних форм значною мірою зумовлює знання генетичної детермінації селекційно-значущих ознак і визначення їх генотипової структури мінливості [2].

– 45 см., відстань між рослинами у рядку – 10 см. Площа ділянки – 2,25-5,4 м².

Фенологічні спостереження та аналіз елементів структури врожаю здійснювали за Широком уніфікованим класифікатором роду *Glycine max*. [3] та Методичними рекомендаціями по вивченню колекції зернових бобових культур [4]. Стандартом слугував сорт Юг-30.

Математичну обробку експериментальних даних проводили на основі методів визначення комбінаційної здатності [5] за параметрами: висота рослин (см), висота прикріплення нижнього бобу (см), кількість на рослині гілок (шт.), кількість вузлів на головному стеблі (шт.), кількість вузлів на гілках (шт.), кількість бобів на рослині (шт.), кількість насінин з рослини (шт.), маса насінин з рослини (г), маса 1000 насінин (г).

бору за фенотипом. Вклад неадитивної частки генотипової варіанси теж був високим і становив 34,8 %, тобто взаємодія компонентів була також значущою. Виділено сорти з істотними ефектами специфічної взаємодії, що обумовлюють середньорослість (Романтика, Краса Поділля), і сорт Мяо-Ян-Доу, схрещування з якими обумовлює високорослість.

Висота кріплення нижнього бобу. Було встановлено, що ця ознака характеризується низьким рівнем модифікаційного варіювання і має високі коефіцієнти успадкування [8]. У наших дослідках, аналіз часток впливу різних генних дій і взаємодій показав, що у мінливість ознаки «висота кріплення нижнього бобу» найбільший внесок (64,4 %) належить неадитивним ефектам (рис. 2). Внесок адитивних ефектів досліджуваних сортів і тестерів був майже однаковим і становив 17,2 і 18,4 %.

Визначення ефектів комбінаційної здатності показало (рис. 3), що найбільш генетично цінним за ознакою «висота кріплення нижнього бобу» виявився сорт Альтаїр (ефект ЗКЗ становив 1,3) при $НП_{05}=1,02$. Цей же сорт виділився і у специфічній комбінації з тестером 1 (Аметист), СКЗ цієї комбінації була істотно високою і становила +3,1.



Рис.1. Висота рослин у топкросних гібридів: 1,2,3,4,5 – сорти Агат, Романтика, Краса Поділля, Мюян-Доу та Альтаір, тестери т1-сорт Аметист, т2 – сорт Алмаз

Кількість на рослині гілок. Ознака «кількість на рослині гілок» характеризує архітектуру рослини, проте вона безпосередньо впливає на врожай. Дослідженнями М.Г. Міку [9] встановлено, що у більшості випадків коефіцієнт успадкування кількості на рослині гілок є середнім, проте зустрічаються гібридні комбінації з високими (більше 0,5). Це підтверджено і нашими дослідженнями.

Аналіз структури генотипової мінливості ознаки «кількість на рослині гілок» показав переважаючий вплив неадитивних ефектів (52,2 %). Внесок материнських форм був 34,8 %, а вплив адитивних ефектів тестерів оцінювався у 13 % і був вчетверо нижчим порівняно з ефек-

тами від взаємодії компонентів (рис. 4). У наших дослідженнях у міжсортних топкросних гібридів на фоні двох тестерів кількість гілок на рослині коливалась у значних межах – від 2 до 8 шт. (у стандарту – 3). Проте достовірні відхилення від середньо популяційної у бік збільшення мала комбінація Альтаір/Алмаз (+2,5, або 44,3 %), а в бік зниження – комбінація Альтаір/Аметист (–3,5–63,9 %).

Кількість вузлів на головному стеблі. Висока генетична обумовленість ознаки «кількість вузлів на головному стеблі» дозволяє вести селекцію на підвищення врожайності, оскільки ці ознаки корелюють позитивно і взаємопов'язані [10].

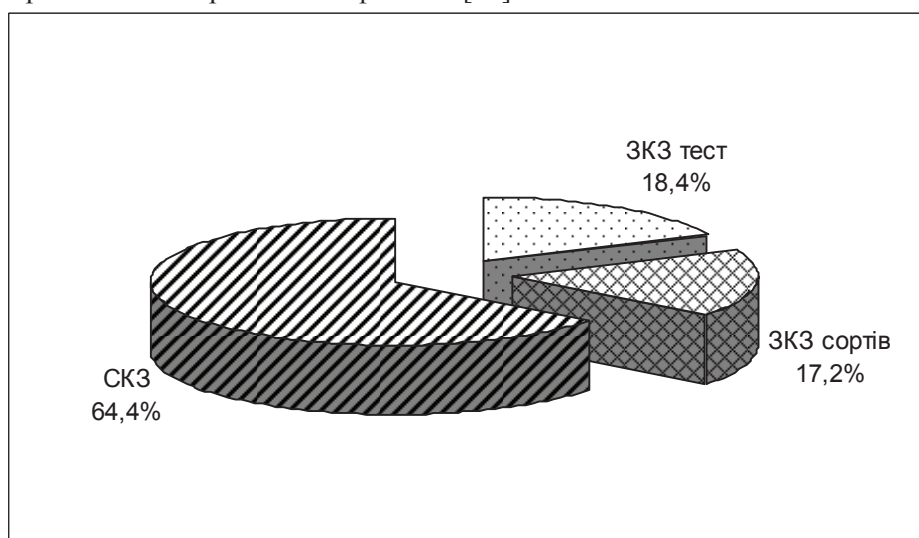


Рис.2. Генотипова структура мінливості топкросних гібридів сої за ознакою висота кріплення нижнього бобу

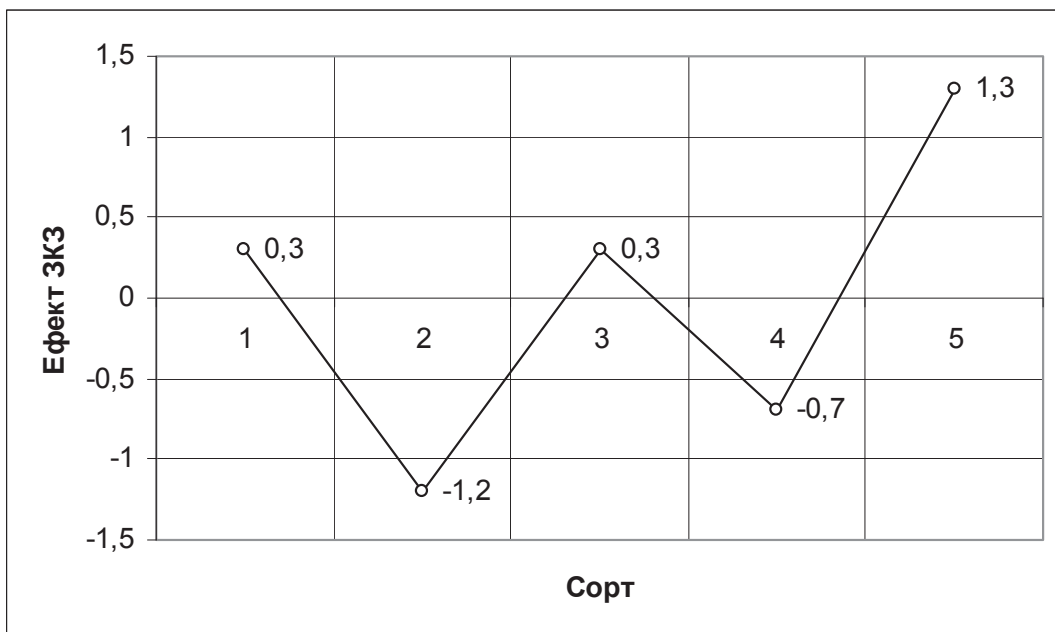


Рис.3. Загальна комбінаційна здатність сортів сої за ознакою висота кріплення нижнього боба. 1, 2, 3, 4, 5 – сорти Агат, Романтика, Краса Поділля, М'яо-ян-Доу та Альтаір

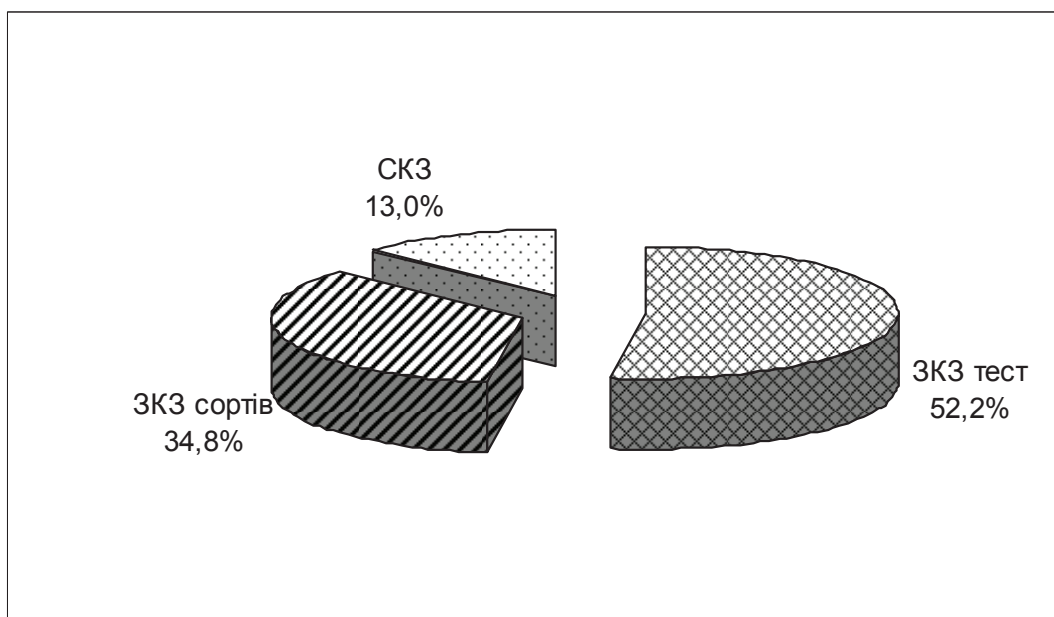


Рис.4. Генотипова структура мінливості топкросних гібридів сої за ознакою кількість на рослині гілок

При використанні тестерних (топкросних) схрещувань у наших дослідках встановили, що міжсортна гібридизація підвищує значення цієї ознаки. У гібридів кількість вузлів на головному стеблі коливалася в межах 16...21 шт. проти 12 шт. у стандарту Юг-30. Генетична обумовленість ознаки визначалася переважно адитивними ефектами, що свідчить про значні резерви селекційного покращення на основі доборів за фенотипом. Внесок неадитивних ефектів був невисоким (10,8 %), а частка дисперсії тестерів була найнижчою і становила 2,5 %. Генотипова варі-

анса, гібридів, пов'язана із загальною комбінаційною здатністю досліджуваних сортів, оцінювалася у 86,7 % від генотипової варіанси (рис. 5). Високою генетичною цінністю характеризувався сорт Агат, ефект ЗКЗ якого був достовірним (+2,0*).

Кількість бобів з рослини. Кількість бобів з рослини – це елемент структури врожаю, знання генетичного контролю якого дозволить створювати сорти з високим потенціалом продуктивності, оскільки ці ознаки мають високий позитивний коефіцієнт кореляції ($r = 0,82...086$).

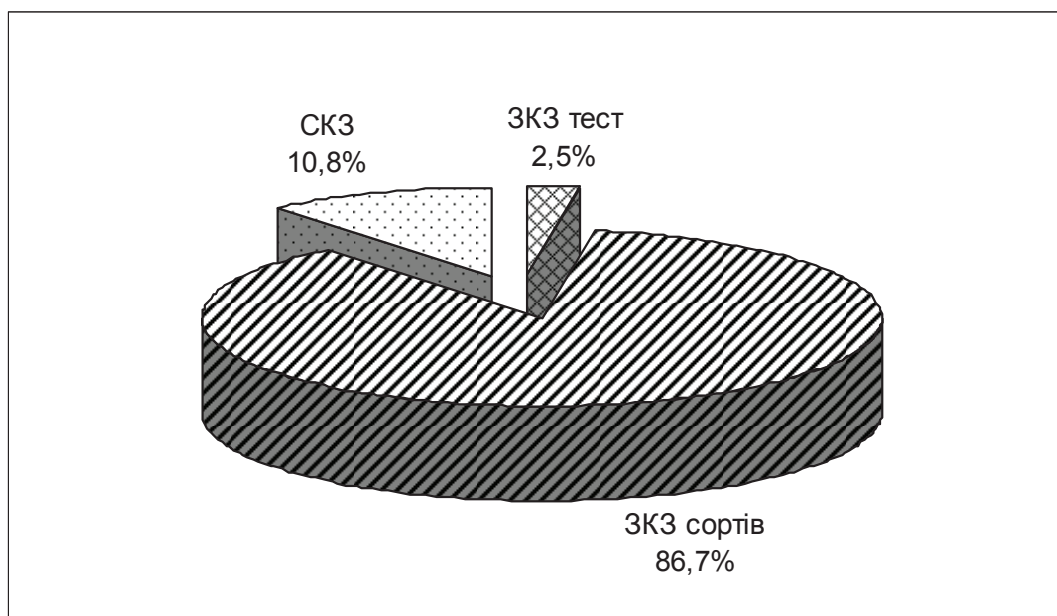


Рис.5. Генотипова структура мінливості топкросних гібридів сої за ознакою кількість вузлів на головному стеблі

Таблиця 1. Ефекти ЗКЗ і СКЗ сортів і тестерів за ознакою кількість бобів з рослини

N п/п	Сорти	Ефекти ЗКЗ сортів	Ефекти СКЗ		Константи (варіанси)	
			Тестер Аметист	Тестер Алмаз	СКЗ сортів	ЗКЗ сортів
1	Агат	-19,0*	39,8*	-39,8*	1581,8	359,2
2	Романтика	25,0*	25,8*	-25,8*	663,4	623,2
3	Краса Поділля	-45,5*	8,3*	-8,3*	66,6	2068,4
4	Мяо-ян-Доу	27,5*	26,3*	-26,3*	689,4	754,4
5	Альтаір	12,0*	-100,2*	100,2*	10037,8	142,2
Ефекти ЗКЗ тестерів			-25,8*	25,8*	Середні константи	
Константи (варіанси) ЗКЗ тестерів			665,2	665,2	СКЗ сортів 2607,8	
Константи (варіанси) СКЗ тестерів			2606,4	2606,4	СКЗ тестерів 2606,4	

Примітка. * – ефекти достовірні на 5 % рівні значущості.

За даними російських авторів, найбільш високий гетерозис у сої відмічено по кількості бобів з рослини, а урожай залежить від адитивної дії генів [11]. Проте у наших дослідженнях у генетичному контролі цієї ознаки переважна частка належала неадитивній дії генів (64,1 %), що вказує на необхідність ретельного підбору пар для гібридизації за ефектами специфічної комбінаційної здатності. Частки адитивності батьківських форм були нижчими і майже однаковими – 19,5 % і 16,4 % відповідно для сортів і тестерів. Визначено ефекти комбінаційної здатності сортів за цією ознакою, які наведено у таблиці. Високими адитивними ефектами характеризувались сорти Романтика, Мяо-ян-Доу та Альтаір (+25,0*, +27,5*, +12,0*), а достовірно низькими – Краса Поділля (-45,5*) і

Агат (-19,0*).

Кращим тестером виявився тестер Алмаз, у якого ефект ЗКЗ становив +25,8*.

Ефекти СКЗ сортів на фоні тестера 1 (Аметист) у комбінацій, крім сорту Альтаір, були значущими (8,3...39,8*). Цікаво, що один і той самий сорт Альтаір дуже добре комбінувався з тестером 2 (Алмаз), показавши найвище значення ознаки у гібриді – 321 шт. бобів з рослини, проте у комбінації з тестером 1 (Аметист) показав себе найгірше (69 шт. бобів з рослини). У найкращого гібрида Альтаір/Алмаз високий гетерозисний ефект був обумовлений сумарною позитивною дією як адитивних ефектів батьківських форм, так і неадитивними ефектами від їх взаємодії.

Висновки

Селекційно-генетичне покращення сої необхідно здійснювати з урахуванням структури генотипової мінливості кількісних ознак. Встановлено, що переважаючими у генетичному контролі ознак кількість вузлів на головному стеблі та висота рослин були адитивні ефекти генів, а ознак кількість бобів з рослини, кількість на рослині гілок та висота кріплення нижнього бобу – неадитивні ефекти взаємодії генів.

Отримано гетерозисні гібридні комбінації, які є вихідним матеріалом для доборів в наступних поколіннях трансгресивних форм. Виділено сорти з істотно високими ефектами ЗКЗ, у яких селекційне покращення кількісних ознак можна вести за фенотипом, а також сорти з істотно високою СКЗ, які забезпечують вдале поєднання генів у конкретних комбінаціях схрещування.

Література

1. Михайлов В.Г. Основні напрямки роботи відділу селекції і насінництва сої // Міжвідомчий тематичний науковий збірник. – К.: Нора-Прінт, 1999. – С. 142–149.
2. Білявська Л.Г., Корнеєва М.О. Фенотиповий прояв кількісних ознак у гібридних комбінаціях F₁ сої // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. – 2012. – №1. – С. 28–31.
3. Широкий уніфікований класифікатор роду *Glycine* Willd; підгот.: Л.Н. Кобизєва, В.К. Рябчун, О.М. Безугла [та ін.] / УААН, Ін-т рослинництва ім. В.Я. Юр'єва. – Х.: Магда LTD, 2004. – 37 с.
4. Корсаков Н.И., Адамова О.П., Буданова В.И. и др. Методические указания по изучению коллекции зерновых бобовых культур. – Ленинград: ВИР, 1975. – 59 с.
5. Савченко В.К. Генетический анализ в сетевых пробных скрещиваниях. – Минск: Наука и техника, 1984. – 223 с.
6. Bernard R.L. An allelic series affecting stem length // Soybean Gen. Newsl. – 1975. – Vol.2. – P. 28–30.
7. Мику М.Г., Дамаскин Д.П. К вопросу наследования некоторых признаков сои // Методы создания исходного материала для выведения гетерозисных сортов и гибридов. – Кишенев, 1978. – С. 40–46.
8. Johnson H.W., Robinson H.F., Comstock R.E. Genotypic and phenotypic correlations in acybeans and their implications in selection / Agr. J. – 1955. – Vol. 47, №10. – P. 447–483.
9. Мику М.Г. Наследуемость признаков у гибридов сои // Генетика, селекция и семеноводство сельскохозяйственных растений. – Кишинев, 1977. – С. 31–38.
10. Михайлов В.Г., Лещенко А.К. Гетерозис как генетическая основа селекции сои на высокую продуктивность // Доклады ВАСХНИЛ. – 1982. – С. 18–25.
11. Генофонд и селекция зерновых бобовых культур (люпин, вика, соя, фасоль). – Генетика количественных признаков. // Теоретические основы селекции / под ред. Курловича Б.С., Репьева С.И. – СПб: ВИР, 1995. – 305 с.

BILYAVSKA L.G.¹, KORNEYEVA M.O.²

¹ *Poltava State Agricultural Academy*

Ukraine, 36003, Poltava, G. Skovoroda str., 1/3, e-mail: bilyavska@ukr.net

² *Institute of Bioenergetics' Cultures and Sugar Beets of NAAS of Ukraine*

Ukraine, 03141, Kyiv, Klinichna str., 25, e-mail: mira31@ukr.net

THE STRUCTURE OF GENOTYPIC VARIATION OF QUANTITATIVE TRAITS IN F₁ PROGENY OF SOYBEAN

Aims. To investigate the structure of genotypic variation of agronomic characters in topcross soybean hybrids. **Methods.** On the basis of dispersion analysis of topcross hybrids the parts of additive and non-additive gene effects of parental components have been determined. **Results.** Characters with mostly additive (plant height, number of nodes on the main stem) and non-additive (number of pods per plant, number of branches per plant and the lower pod height) gene effects have been determined. That allows choosing the strategy of their breeding and genetic improvement. Some heterosis hybrids were selected in order to search for transgressive soybean forms. **Conclusions.** It has been determined that additive gene effects mostly influenced genetic control of such traits as number of nodes on the main stem and plant height, while non-additive effects of gene interaction were more significant in genetic control of the number of pods per plant, number of branches per plant and the lower pod height.

Key words: soybeans, topcross hybrids, gene interaction, heterosis.

БУЙДІН Ю.В.

Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України
Україна, 01014, м. Київ, вул. Тімірязєвська, 1, e-mail: yus@online.ua

УСПАДКУВАННЯ ОКРЕМИХ ДЕКОРАТИВНИХ І ГОСПОДАРСЬКО-ЦІННИХ ОЗНАК СІЯНЦЯМИ *ASTILBE* BUCH. – НАМ. EX D.DON ВІД СПОНТАННОГО ПЕРЕЗАПИЛЕННЯ

Рід астильба (*Astilbe* Buch.–Nam. ex D.Don) належить до родини *Saxifragaceae* Juss., налічує більше 40 видів поширених у південно-східній Азії та більше 300 сортів і є одним із найперспективніших ті невитривалих багаторічників для декоративного садівництва України [1]. У Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України розпочато селекційну роботу з астильбою. Її першим результатом є створення чотирьох сортів вітчизняної селекції (Анюта, Лебідонька, Оченята, Хурделиця) на які у 2011 році отримано авторські свідоцтва.

Одним з початкових етапів селекційного процесу є добір родоначальних генотипів із вихідного матеріалу. Цей етап є найвідповідальнішим, найскладнішим, і водночас, маловивченим. Теоретична база для нього недостатня як у провідних сільськогосподарських культур, так і у квітничково-декоративних зокрема [2].

Загальновідомим є той факт, що від уміння правильно добирати вихідні батьківські пари залежить успіх селекціонера в досягненні поставленої мети. Сорти, що використовуються, повинні бути не тільки високодекоративними і мати високий коефіцієнт розмноження, а й в першу чергу, пристосованими до місцевих ґрунтово-кліматичних умов. Для правильного добору батьківських пар необхідно знати, як успадковуються окремі декоративні і господарсько цінні ознаки.

Головна мета нашого дослідження – з'ясувати, на який рік припадає початок генеративної фази та вивчити особливості успадкування деяких декоративних і господарсько цінних ознак у сіянців від спонтанного переапилення сортів астильби для подальшого використання отриманих результатів під час створення вітчизняних сортів.

Використання у проведеному дослідженні сіянців, отриманих від спонтанного переапилення, обумовлене високим показником насінної продуктивності від цього способу запилення у

більшості інтродукованих сортів. Також, нами врахований загальновідомий факт, що ознаки материнського сорту передаються потомству більшою мірою, ніж ознаки батьківського, оскільки гібридне насіння формується саме на материнській особині [2]. Слід зазначити, що на даному етапі дослідження, в якості материнської особини, в першу чергу відбирались сорти, що характеризувались найвищою насінневою продуктивністю.

Основна увага приділялась вивченню успадкування таких важливих кількісних і якісних ознак, як висота рослини та розетки листків, довжина суцвіття, діаметр суцвіття і квітки, продуктивність цвітіння, забарвлення суцвіття і листків на початку вегетації, форма суцвіття та ін.

Нами досліджено 295 сіянців, отриманих від спонтанного переапилення 13 інтродукованих сортів астильби. Найбільшу кількість сіянців отримано від сорту *Elegans Carnea* – 65, *Diamant* – 62, *Professor Van der Wielen* – 36 та *Weisse Gloria* – 35 (табл. 1).

Не зважаючи на те, що у одного з досліджуваних сіянців від сорту *Diamant* цвітіння спостерігалось вже в рік посіву насіння, початок цвітіння здебільшого припадає на другий рік після посіву (42,6 % в середньому для всіх досліджуваних сіянців).

Найбільший відсоток сіянців, що зацвіли на другий рік, мали сорти *Kvele* (100 %), *Salland* (78,6 %), *Diamant* (61,3 %). Найменший – *Cattleya* (0 %), *Peach Blossom* (12,5 %), *Juno* (14,3 %). Сіянці другого року вегетації мали від 1 суцвіття (73,7 % від тих, що зацвіли) до шести (1,5 %) (табл. 2).

У сіянців третього року вегетації спостерігалось найактивніше цвітіння (88,6 % рослин, що зацвіли в середньому для всіх досліджуваних сіянців). Зокрема, цей показник варіював від 66,7 % (сорт *Cattleya*) до 100 % (сорт *Kvele*) (табл. 3).

Таблиця 1. Цвітіння сіянців від спонтанного перезаплення інтродукованих сортів астильби в різні роки вегетації

Материнський сорт	Кількість сіянців, шт	Кількість сіянців, що зацвіли					
		в рік посіву		на другий рік		на третій рік	
		шт	%	шт	%	шт	%
Elegans Carnea	65	0	–	26	40,0	59	90,8
Diamant	62	1	0,3	38	61,3	61	98,4
Professor Van der Wielen	36	0	–	13	36,1	33	91,7
Weisse Gloria	35	0	–	17	48,6	33	94,3
Siegfried	24	0	–	10	41,7	22	91,7
Amethyst	24	0	–	12	50,0	21	87,5
Salland	14	0	–	11	78,6	14	100,0
Peach Blossom	8	0	–	1	12,5	7	87,5
Bronzelaub	7	0	–	3	42,9	6	85,7
Irrlicht	7	0	–	2	28,6	6	85,7
Juno	7	0	–	1	14,3	5	71,4
Kvele	3	0	–	3	100,0	3	100,0
Cattleya	3	0	–	0	0	2	66,7
Всього	295	1	0,3	137	42,6	272	88,6

Таблиця 2. Продуктивність цвітіння сіянців другого року вегетації, в %

Материнський сорт	Кількість сіянців, що зацвіли, шт	Кількість суцвіть на одну рослину						Сіянци, що мають більше одного суцвіття
		одне	два	три	чотири	п'ять	шість	
Diamant	38	65,8	7,9	7,9	5,3	7,9	2,6	31,6
Elegans Carnea	26	76,9	15,4	3,8	3,8	0	0	23,0
Weisse Gloria	17	64,7	17,6	5,9	5,9	5,9	0	35,3
Professor Van der Wielen	13	92,3	7,7	0	0	0	0	7,7
Amethyst	12	58,3	0	33,3	0	0	8,3	41,6
Salland	11	72,7	18,2	9,1	0	0	0	27,3
Siegfried	10	90,0	0	0	10,0	0	0	10,0
Bronzelaub	3	100,0	0	0	0	0	0	0
Kvele	3	66,7	33,3	0	0	0	0	33,3
Irrlicht	2	100,0	0	0	0	0	0	0
Peach Blossom	1	100,0	0	0	0	0	0	0
Juno	1	100,0	0	0	0	0	0	0
Всього	137							

Таблиця 3. Продуктивність цвітіння сіянців третього року вегетації, %

Материнський сорт	Кількість сіянців, що зацвіли, шт	Кількість суцвіть на одну рослину									Сіянці, що мають більше п'яти суцвіть
		одне	два	три	чотири	п'ять	шість	сім	вісім	десять і більше	
Elegans Carnea	36	11,1	13,9	13,9	19,4	19,4	8,3	5,6	5,6	2,8	22,3
Diamant	23	26,1	17,4	13,0	13,0	13,0	4,4	4,3	4,3	4,3	17,3
Salland	14	7,1	7,1	21,4	7,1	14,3	0	14,3	0	28,6	42,9
Amethyst	12	50,0	0	25,0	8,3	0	0	8,3	8,3	0	16,6
Professor Van der Wielen	9	22,2	11,1	0	33,3	0	22,2	11,1	0	0	33,3
Weisse Gloria	5	0	0	20,0	0	20,0	0	0	20,0	40,0	60,0
Siegfried	3	33,3	0	0	0	0	0	0	33,3	33,3	66,6
Всього	102										

Продуктивність цвітіння сіянців третього року вегетації коливалась в межах від одного суцвіття (19,6 % в середньому для всіх досліджуваних) до 17 суцвіть – у сіянця сорту Weisse Gloria. Зокрема, найпродуктивнішими були сіянці, отримані від сорту Siegfried – 66,6 % рослин, що мали більше п'яти суцвіть на одну рослину; найменш продуктивними – сорту Amethyst – 16,6 %.

У результаті дослідження успадкування

ознак трирічними сіянцями, вирощеними з насіння від спонтанного перезапилення, була відмічена значна варіативність у більшості основних показників. Наприклад, сіянці, отримані від сорту Elegans Carnea, мали такі форми суцвіття: поникла (як у материнського) – 39,4 % рослин, волотеподібна – 39,4 %, волотеподібна з пониклою верхівкою – 12,1 %, волотеподібна пухка – 6,1 % та волотеподібна компактна – 3 % (табл. 4).

Таблиця 4. Успадкування форми суцвіття сіянцями від спонтанного перезапилення, %

Материнський сорт	Форми суцвіття материнського сорту	Форми суцвіття сіянців				
		волотеподібна	волотеподібна пухка	волотеподібна з пониклою верхівкою	волотеподібна компактна	поникла
Diamant	волотеподібна	72,1	9,3	4,7	7,0	7,0
Professor Van der Wielen	поникла	44,4	5,6	27,8	0	22,2
Elegans Carnea	поникла	39,4	6,1	12,1	3,0	39,4
Siegfried	волотеподібна	33,3	22,2	11,1	0	33,3
Weisse Gloria	волотеподібна, компактна	31,6	10,5	10,5	31,6	15,8
Amethyst	волотеподібна	30,0	20,0	10,0	20,0	20,0
Salland	волотеподібна, пухка	0	100,0	0	0	0

У досліджуваних сіянців відмічено дев'ять основних забарвлень суцвіття. Зокрема, у сорту Siegfried спостерігалось два основних забарв-

лення, тоді як у сортів Elegans Carnea і Salland – сім (табл. 5).

Таблиця 5. Успадкування забарвлення суцвіття сіянцями, вирощеними з насіння від спонтанного перезапилення, в %

Материнський сорт	Забарвлення суцвіття материнського сорту	Кількість сіянців, що зацвіли, шт	Забарвлення суцвіття								
			біле	рожеве	світло-рожеве	насичено-рожеве	кремово-рожеве	бузково-рожеве	фіолетово-рожеве	фіолетове	бузково-фіолетове
Elegans Carnea	рожеве	36	25,0	33,3	11,1	5,6	5,6	8,3	11,1	0	0
Diamant	біле	14	71,4	7,1	0	0	0	7,1	14,3	0	0
Salland	фіолетово-рожеве	14	0	7,1	7,1	7,1	0	28,6	28,6	7,1	14,3
Professor Van der Wielen	біле	9	22,2	11,1	22,2	0	0	11,1	33,3	0	0
Weisse Gloria	біле	9	33,3	22,2	0	0	0	11,1	33,3	0	0
Amethyst	бузково-фіолетове	9	22,2	22,2	11,1	0	0	11,1	0	0	33,3
Siegfried	бузково-фіолетове	3	0	66,7	0	0	0	33,3	0	0	0

У сіянців від сорту Elegans Carnea відмічено значне варіювання кольорів суцвіття, при цьому не спостерігається переважання одного із забарвлень. Зокрема, найбільше сіянців мали рожеве забарвлення (як у материнського сорту) – 33,3 %; біле забарвлення – 25 %, світло-рожеве і фіолетово-рожеве – 11,1 %, бузково-рожеве – 8,3 %, насичено-рожеве і кремово-рожеве – 5,6 %. У сіянців від сорту Diamant, навпаки, відмічено домінування білого забарвлення суцвіття (як у материнського сорту) – 71,4 % (табл. 5).

Значне варіювання у сіянців від спонтанного перезапилення спостерігається також за висотою рослин. Наприклад, у сорту Elegans Carnea висота рослин сіянців відмічена в межах від 55 до 125 см (висота рослини материнського сорту у середньому 94 см).

Отже, у результаті проведеного дослідження з'ясовано, що цвітіння сіянців астильби здебільшого відбувається на другий-третій рік вегетації рослин. На третій рік цвітіння спостерігалось майже у 90% досліджуваних сіянців.

Установлено, що для сіянців від спонтанного перезапилення сортів астильби характерний широкий спектр успадкування основних декоративних і господарсько-цінних ознак і не спостерігається домінування ознак материнського сорту.

Продуктивність цвітіння є однією з найважливіших характеристик рослин астильби, тому виявлена значна варіативність за цією ознакою у сіянців дає змогу відібрати найпродуктивніші індивіди для вільного перезапилення на ізолюваних ділянках, а також, для штучного парного схрещування з сортами, що мають інші

цінні ознаки, з метою створення продуктивних високодекоративних сортів, пристосованих до природно-кліматичних умов України.

Закономірності успадкування забарвлення суцвітть у астильби простежити дуже складно, оскільки загальновідомо, що наявність того чи іншого кольору часто залежить не від одного, а від кількох пігментів, а також від кислотності клітинного соку й, очевидно контролюється полігенно. Наші дослідження показали, що у сіянців астильби домінують більш світлі відтінки у забарвленні суцвіття (білий, рожевий, світло-рожевий, бузково-рожевий). Це, в якійсь мірі пояснює невелику кількість сортів в світовому сортименті астильби з інтенсивним забарвленням суцвіття (малиновим, червоним, темно-фіолетовим). Тому створення вітчизняних сортів з вище зазначеними забарвленнями суцвіття є одним з пріоритетних завдань у майбутньому селекційному процесі.

Отримані результати мають важливе теоретичне значення при доборі батьківських пар і можуть бути використані під час створення сортів вітчизняної селекції.

Слід зазначити, що проведені дослідження є лише початковим етапом у розробці теоретичної бази для селекційної роботи з астильбою в Україні. Характер успадкування ознак сіянцями в майбутньому потребує більш детального вивчення. При цьому слід використовувати окрім спонтанного перезапилення інші типи запилення (вільне вибіркове і штучне – пряме та реципрокне). Це доповнить вищенаведені результати досліджень.

Література

1. Буйдін Ю.В. Походження сортів та сучасний світовий сортимент астильби (*Astilbe Buch.* – *Ham. ex D. Don*) // Вісник Львівського університету. – Серія біологічна. – 2004. – Вип. 36. – С. 38–42.
2. Дрягина И.В., Кудрявец Д.Б. Селекция и семеноводство цветочных культур. – М.: Агропромиздат, 1986. – 256 с.

BUIDIN YU.V.

*Gryshko National Botanical Gardens of the Academy of Science of Ukraine
Ukraine, 01014, Kyiv, Tymiriazevska str., 1, e-mail: yus@online.ua*

INHERITANCE OF SEPARATE DECORATIVE AND ECONOMIC AND VALUABLE SIGNS BY *ASTILBE BUCH* – *HAM. EX D. DON* SEEDLINGS FROM SPONTANEOUS INTERCROSS

Aims. To investigate features of inheritance of some decorative and economic and valuable signs at a seedlings from spontaneous intercross of varieties of astilbe for the purpose of further use of the received results at creation of domestic varieties. **Methods.** Were investigated 295 seedlings received from spontaneous intercross of introduced 13 varieties of astilbe. Used comparative morphological and phenological methods. **Results.** Flowering of seedlings of astilbe in most cases occurs on the second or the third year of vegetation of plants was found out. For the third year flowering was observed in almost at 90 % of studied seedlings was defined. For seedlings from spontaneous intercross of varieties of astilbe have the wide range of inheritance of the main decorative and economic and valuable signs and isn't observed domination of signs of a maternal variety was established. **Conclusions.** The received results have important theoretical value at a selection of parental couples and can be used during the creation of varieties of domestic breeding. **Key words:** astilbe, inheritance indication characteristic, seedling, flowering, spontaneous intercross.

БУРДЕНЮК-ТАРАСЕВИЧ Л.А.

*Білоцерківська дослідно-селекційна станція Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків
НААНУ
Україна, 09176, с. Мала Вільшанка, вул. Радянська, 1, Білоцерківський р-н, Київська обл., e-mail:
Burdenyuk@gmail.com*

ХАРАКТЕР УСПАДКУВАННЯ ОЗНАК *T. SPELTA L.* ЧОРНОБИЛЬСЬКИМИ МУТАНТАМИ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ

В процесі еволюції пшениць утворилося велике різноманіття форм. До них належить і вид *Triticum spelta* L., археологічні знахідки якого відносяться до раннього неоліту. На початку ХХ століття чисті посіви спельти ще знайдені в деяких гірських країнах Центральної Європи, в Середній Азії, в Азербайджані, на Кавказі, в Ірані [1]. Про походження спельти існує кілька гіпотез: первинне походження по відношенню до *Triticum aestivum* L. і вторинне. Доказом останньої М.І. Вавілов вважав появу спельти при міжвидовій гібридизації, а також в посівах чистих ліній м'якої пшениці та появу в них спельтоїдних мутацій. В.Ф. Дорофеев же вважав, що існує одночасно і первинна *T. spelta*, що походить від *T. macha*, яка придбавши домінантність гена G, дала початок м'якій пшениці, яка в

свою чергу при спонтанній гібридизації з тетраплоїдними видами слугує базою для утворення вторинної спельти. Селекціонерів спельта приваблює своєю невимогливістю до умов вирощування, що пов'язане з формуванням її в гірських умовах, а також стійкістю до твердої сажки, а деяких її різновидностей – до бурої іржі. Метою наших досліджень було визначити морфологічні та біологічні особливості різних форм спельти, які утворилися як результат радіаційного опромінення чотирьох сортів пшениці озимої *T. aestivum* в зоні відчуження Чорнобильської АЕС. Необхідно було з'ясувати характер успадкування ознаки спельтоїдності та специфічність мутаційних змін в залежності від генотипу сорту.

Матеріали і методи

У 1988 р. 239 зразків озимої пшениці, які протягом двох попередніх років на всіх етапах органогенезу – в посіві 1986р. і в самосіві 1987 р. –хронічно опромінювалися в зоні відчуження Чорнобильської АЕС, були передані ак. Д.М. Гродзинським на Білоцерківську дослідно-селекційну станцію для їх підтримання і подальшого вивчення. Формування доз, які були поглинуті рослинами, визначалося комбінацією зовнішнього гама-опромінення та внутрішнього опромінення бета- і альфа-частками від інкорпорованих радіонуклідів [2].

У господарствах на території відчуження ЧАЕС, де відбиралися морфологічно змінені форми, в посівах знаходилися 4 сорти пшениці м'якої озимої: Миронівська 808, Білоцерківська 47, Поліська 70 і Киянка. Дослідження в розсадниках первинного насінництва цих сортів до моменту аварії показували їх стабільність за ос-

новними морфологічними ознаками. Щорічно, протягом 25-и поколінь (1988–2012 рр.) відмінні від вихідних сортів форми, які утворювалися, відбиралися по колосах і пересівалися методом педігрі. Після одержання константних форм, їх висівали в контрольних розсадниках для вивчення морфологічних, біологічних та господарсько-цінних ознак. Для більш чіткого розподілу утворених мутантів на умовні класи, проводився морфологічний аналіз колосся (по 20 колосів кожного класу мутантів). Визначалися довжина колоса, кількість колосків в колосі, квіток і зерен в колосках верхньої і нижньої половини колоса, відсоток стерильних квіток і індекс щільності (колосків на 10 см стрижня колоса), кількість зерен в колосі і їх маса. Для визначення характеру успадкування ознак мутацій проводили реципрокрні та аналізуючі схрещування мутантів з вихідними сортами.

Результати та обговорення

Серед чорнобильських мутантів, які виникли в М₄ і пізніших поколіннях сорту Білоцерківська 47 (БЦ 47), великою групою представлені спельтоїди (табл. 1). У цілому ж, широкий

спектр мутацій, що утворився внаслідок опромінення, нами детально проаналізований у попередніх публікаціях [3–5].

Таблиця 1. Морфологічний аналіз колосся мутантів *T. spelta* і *Speltoides*, що проявилися в пізніх поколіннях генетично нестабільного мутанту БЦ – 47 скв., в порівнянні з вихідним сортом Білоцерківська 47, (середне за 1997–1999 рр.)

Клас мутантів	Довжина колоса, см	Товщина по боковій стороні верх/низ, мм	К-сть колосків у колосі,	Індекс щільності колоса верх/низ	К-сть квіток у колоску колоса верх/ низ	Стерильність квіток колоса, %	К-сть зерен у колосі, шт.	Маса зерен з колоса, г	Маса 1000 зерен, г
В БЦ 47 скверхед 765/89									
<i>T. Spelta</i> безоста	8,9	8/9	16	22/16	4,2/4,3	56/42	35	1,2	34
Спельтоїд безостий	9,9	11/11	16	22/16	4,4/4,8	57/50	39	1,3	33
<i>Spelta-compact.</i>	9.0	10/10	17	24/16	4.4/5.0	59/40	42	1.7	40
В БЦ 47 скверхед 20006/89									
<i>T. Spelta</i> остиста	12,8	9/10	21	18/14	4,3/4,9	52/34	54	0,9	16
Спельтоїд остистий	13,6	9/9	21	15/16	3,6/4,3	45/42	47	1,7	36
БЦ47- вихідний сорт	10,6	13/12	19	19/15	4,3/5,3	41/34	56	1,8	33

Серед чорнобильських спельтоїдних мутантів нами було виділено 4 класи:

1-й клас. *T. spelta* (рис. 1) – остиста, безо-

ста та напівостиста: колос легко розпадається на колоски, зерно тяжко вимолочується. Колоси тонкі, довгі, рихлі, майже квадратні на зрізі, зу-

бець колоскової луски тупий, висота рослин до 1,2 м. Кількість квіток і зерен в колосі невелика, стерильність квіток висока, низькі маса 1000 зерен (20–34 г) і загальна продуктивність колосу (0,7–1,2 г). Вперше спельти – остиста (10 % в потомстві) і безоста (85 %) – з’явилися в М₄ нестабільного мутанта БЦ скверхед 765/89 (рис. 2). Серед спельт спостерігалось розщеплення по висоті рослин на карлики (50 см) і на середньорослі (95 см), а також на скверхеда з різною щільністю колоса. Серед окремих потомств з’явилися рослини з усіма ознаками вихідного сорту Білоцерківська 47 [3]. Аналогічні мутації сорту БЦ47 виникли і у сортів Поліська70 та Миронівська 808. А ось у сорту Киянка спектр



Рис. 1. *Spelta* остиста

3-й клас спельтоїдних мутацій – *Spelta-Squarehead* (*Sp.*-скв.) найбільш поширені серед чорнобильських мутантів сорту БЦ47, характеризуються високим індексом щільності верхньої частини колосу. Як і спельтоїди попереднього класу, вони мають підвищену стерильність квіток, особливо верхньої половини колосу – до 59 %, колоскові і квіткові луски дуже грубі, обмолот тяжкий, але на колоски при обмолоті не розпадаються. До цього ж класу спельтоїдних мутацій можна віднести і *Spelta-Compactum* (*Sp.*-комп.) також з утрудненим обмолотом, але з щільним колосом на всьому протязі колосового стрижня. З’явилися вони вперше в М₆ при розщепленні мутантів *T. spelta*, остисті і безості.

4-й клас спельтоїдних мутацій – спельтоїд з гіллястим колосом – займає особливе положення серед інших, він за своїми ознаками дуже

мутацій був вужчим і частота меншою, у нього при багаторічних пересівах не було відмічено мутацій типу *T. spelta*. В той же час у Киянки мутації *T. compactum*-карлики з висотою рослин 50–60 см – вищепились уже в М₃, значно раніше, ніж у інших сортів, що свідчить про значну роль самого генотипу в мутаційній мінливості. Сорти, більш близькі за походженням, дали і більш схожі мутації.

2-й клас – *спельтоїди* – остисті і безості, відрізняються від вихідного сорту рихлим, тонким, довгим колосом з грубими лусками і тяжким обмолотом, але, на відміну від попереднього класу, на колоски колосовий стрижень при обмолоті здебільшого не розпадається.



Рис. 2. Розщеплення мутанта БЦ скверхед у М₂₅ на *Spelta* б/о і компактоїди

схожий на пшеницю, яку М.Г. Туманян знайшов в 1927 р. в районі озера Ван (Турецька Вірменія). Це характерні гіллясті форми з 42 хромосомами, які виділяються надзвичайною трудністю обмолоту, мають крупний колос, стійкі до осипання. М.М. Якубцінер, завдяки їх надзвичайній ксерофільності і ендемічності для старовинного району культури, виділив їх в окремий вид *T. vavilovi*. Вперше *T. vavilovi* безоста (рис. 3.) виявлена нами в М₆ при розщепленні нестабільного мутанта БЦ 47 скв. 765/89, а пізніше – у гібридах від схрещування, де одним з компонентів була *T. spelta*, виділена з БЦ 47 скв. 20006/89, або з БЦ 47 скв. 765/89, а другим – стабільний за морфологічними ознаками стандартний сорт Миронівська 61 різновидності лютесценс. А *T. vavilovi* (рис. 4) остиста утворилася в наступних комбінаціях схрещування: 1) К18/93

(*Spelta* б/о / Миронівська 61); 2) К49/93 ВС2 (Білоцерківська 47 / *Spelta* остиста // *Spelta* остиста) 3) К50/93 ВС1(*Spelta* б/о / Миронівська61) // *Spelta* б/о.

Мутації ознаки наявність остей успадковувалися при схрещуванні незалежно від спельтоїдності батьківських форм. При пересіві мутантів спектр їх збільшувався в пізніх поколіннях [4, 5] Так, серед нащадків мутанта БЦ47 скв. 756/89 після 25 – річних пересівів були як стабільні лінії, так і лінії, які все ще розщеплювалися на спельтоїди, скверхеди, компактоїди.



Рис. 3. *T. Vavilovi* безоста

Для з'ясування характеру успадкування ознаки спельтоїдності було проведено низку реципрокних і аналізуючих схрещувань, в яких одним з партнерів виступала *T. spelta*, що утворилася в пізніх поколіннях мутантів БЦ 47 скверхед, а другим – вихідний сорт Білоцерківська 47. В F1 К51/92 повністю домінувала спельтоїдність. В F2 одержали 138 рослин *T. spelta*; 37 – в різній мірі виражені скверхеди. Гібридологічний аналіз показав, що це – моногібридне розщеплення з ефектом епістазу: *spelta*>*squarehead*>*erythrosperrum*. У цьому схрещуванні ознака спельтоїдності домінує і несе в собі в прихованій формі ознаки скверхедів. В F₃ знову було висіяне окремими сім'ями насіння з кожного колоса F₂. Аналіз 10 потомств колосся *T. spelta* показав, що 5 з них на 100 % належали до *T. spelta* ост, в одному потомстві з'явилися рослини *Spelta-Compactum*, а в чотирьох – спостерігалось розщеплення на *T. spelta* ост. і в різній мірі виражені скверхеди. В двох потомствах скверхедного колосся відбулося розщеплення на *T. spelta* і яскраво виражені скв., а в двох інших потомствах, висіяних скверхедами, були лише скверхеди. Отже ні в потомствах F₂,

Прояв мутацій в пізніх поколіннях можливий як за рахунок їх рецесивного характеру успадкування, коли при самоzapлiдненні досягається гомозиготність певної ознаки, так і внаслідок явища нестабільного мутагенезу, коли молекулярні пошкодження передаються через ряд клітинних поколінь, не проявляючись деякий час у фенотипі. В той же час проходить ланцюгова реакція на рівні хромосом і може охопити кілька клітинних циклів, які і приведуть до появи мутантів на рівні цілої рослини [6].



Рис. 4. *T. Vavilovi* остиста

ні в F₃ не було одержано жодної рослини, яка б по морфології колоса була схожа на вихідний сорт Білоцерківська 47, в той же час, з'явилися скверхеди, яких не було серед батьківських форм. Аналогічні результати одержані і при проведенні зворотного схрещування К 52/92. Дослідження показали, що мутанти з спельтоїдними ознаками колоса і скверхеди генетично пов'язані між собою. Спельтоїди при індивідуальних відборах, а також в різних поколіннях при схрещуванні вищеплюють скверхеди, а скверхеди, навпаки – спельтоїди. Генетично *T. compactum* (CC) відрізняється від *T. aestivum* (cc) домінантним геном С, який локалізований в хромосомі 2Д. Одержані результати можна пояснити на основі генетичної формули Мак Кея (1954) [7] для 42-хромосомних пшениць: *vulgare QQccSS*, *compactum QQCCSS*, *spelta qqccSS*. Домінантний алель *Q* гальмує розвиток спельтоїдності. Поява спельтоїдних мутантів відбувається або у випадку втрати цілої хромосоми 5А, чи ділянки, яка несе ген *Q*, або при мутації *Q* в рецесивний ген *q*. Збільшення дози *q* веде до утворення колосу типу *spelta* – *compactum*. При гетерозиготності по локусу *Qq* рослина буде

спельтоїдом, а збільшення дози Q приведе до скверхедного (QQ), або компактоїдного ($QQQQ$) типу колоса [8] Крім того, в різних комбінаціях схрещування мутантів спельтоїдів з *T. aestivum*

з'являються спельтоїди з гіллястим колосом і видовженими колосковими стрижнями – *T. vavilovi*.

Висновки

Утворення в умовах підвищеної радіації системних мутацій типу *T. spelta.*, підтверджу-

ють вирішальну роль спонтанного мутагенезу в еволюції пшениць.

Література

1. Культурная флора СССР / под редакцией В.Ф. Дорощева. – Ленинград: Колос, 1979. – С. 193–197.
2. Гродзинський Д.М., Коломиєц О.Д., Курлахмедов Ю.А. Антропогенная радионуклидная аномалия и растения. – К.: Либидь, 1991. – 156 с.
3. Бурденюк-Тарасевич Л.А. Можливості селекційного використання колекції чорнобильських мутантів озимої пшениці // Зб. наукових праць Селекційно-генетичного інституту – національного центру насіннєзнавства та сортовивчення. – Одеса: СГП – НАЦНАІС, 2004. – Вип. 6 (46), Ч. II. – С. 194–205.
4. Бурденюк-Тарасевич Л.А. Методи селекції сортів озимої м'якої пшениці з підвищеною адаптивністю до умов Лісостепу і Полісся України // Автореферат дисертації на здобуття ступеня доктора с.-г. наук. – Київ, 2001. – 41 с.
5. Бурденюк-Тарасевич Л.А. Утворення системних мутацій озимої пшениці як наслідок радіоактивного опромінення рослин *Triticum aestivum* L в зоні відчуження Чорнобильської АЕС // Фактори експериментальної еволюції організмів. НАНУ, УААН, Укр. тов. ГіС ім. М.І. Вавилова. Зб. Наукових праць. – Київ: Логос, 2006. – Т. 3. – С. 339–344.
6. Валева С.А. Принципы и методы применения радиации в селекции растений. – М.: Атомиздат, 1967. – 86 с.
7. Mac Key J. Neutron and X-ray experiments in wheat and a revision of the speltoid problem // Hereditas. – 1954. – N. 1-2. – P. 65–180.
8. Muramatsu M. Dosage effect of the spelta gene q of hexaploid wheat // Genetics. – 1963. – Vol. 48. – P. 469–482.

BURDENYUK-TARASEVYCH L.A.

Bila Tserkva research and Breeding Station of the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet of the National Academy of Agricultural Science of Ukraine
Ukraine, 09176, Kyiv region, Bila Sterkva district, v. Mala Vilshanka, Radianska str., 1, e-mail: Burdenyuk@gmail.com

CHARACTER OF *T. SPELTA* L. TRAITS INHERITANCE BY CHERNOBYL MUTANT OF SOFT WINTER WHEAT

Aims. The study was conducted to determine the morphological and biological characteristics of different forms of spelled, formed as a result of irradiation of four varieties of winter wheat-*T. aestivum*–Myronivska 808, Belotserkovskaya 47, Woodland 70 and Kiyanka, in the exclusion zone of the Chernobyl Nuclear Power Station. It was necessary to ascertain the nature of inheritance trait speltoidnosti and specificity of mutational changes depending on the genotype of the variety. **Methods.** Every year, during the 25 generations (1988–2012) the forms that differed from the original varieties were selected by ear and by re-seeded by pedigree method. Morphological analysis of ears was conducted (20 ears each class of mutants). The length of spike, number of spikelets in the ear, flowers and grains in the ears of the upper and lower half of the ear, the percentage of sterile flowers and code density (ears 10 cm rod spike), the number of grains in the ear and their weight were determined. To determine the mutation inheritance character reciprocal and analyzing crosses of *T. spelta* mutants with original varieties were conducted. **Results.** The wide variety of winter wheat mutations was discovered as a result of radiological irradiation. The spectrum of mutations was widening from generation to generation due to unstable mutagenesis. Analyzing crossing has proven the recessive character of the mutations noted. Mutation process is dependent on variety genotype. **Conclusions.** Mutations prove the important role of mutagenesis in evolution of *T. aestivum* wheat.

Key words: Chernobyl mutants, crossings, winter wheat, *T. aestivum*, *T. spelta*.

ВИРОВЕЦЬ В.Г.¹, ЛАЙКО І.М.¹, КИРИЧЕНКО Г.І.¹, ГОРШКОВА Л.М.²

¹ Дослідна станція луб'яних культур Інституту сільського господарства Північного Сходу НААН Україна., 41400, Сумська обл., м. Глухів вул. Терещенків, 45, e-mail: ibc@sm.ukrtel.net

² Глухівський національний педагогічний університет ім. Олександра Довженка Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул. Києво-Московська, 24

НЕВИЧЕРПНІ МОЖЛИВОСТІ ДОБОРУ НА ПРИКЛАДІ ПОСІВНИХ КОНОПЕЛЬ

Сійся, родися, жито, пшениця, всяка пашниця,
На щастя, на здоров'я та новий рік,
Щоб уродило краще, як торік:
Коноплі – під стелю, а льон – над коліна,
Щоб у Вас, хрещених, голова не боліла.
Будьте здорові, з Новим роком, дай, Боже!

(із народних колядок)

З часів свідомого землеробства люди завжди мріяли про збільшення урожаїв зернових, овочевих та інших культур. Як влучно заявив акад. М.І. Вавилов, культура поля розвивалась паралельно культурі людства, найціннішим винаходом якого стала хлібина. До наших днів в Національному музеї Швейцарії (м. Цюрих) зберігається паляниця, яка була випечена за 4 тис. років потому.

Зростаючі успіхи землеробства стали наслідком активної селекції та наукового підходу до створення оптимальних умов вирощування. З часом ці вимоги стали торкатись і волокнистих культур, зокрема льону та конопель. Завдяки господарським властивостям коноплі стали невід'ємною складовою існування людини. Якщо хлібні злаки використовувались безпосередньо для харчування, то луб'яні культури були не менш значимі в загальному процесі виживання. Конопляний луб одночасно з корою дерев слугував, як засіб у побуті, з'єднуючи матеріали при будівництві та веденні скотарства, а з освоєнням процесів виділення волокна став застосовуватись, як прядиво. З винаходом простого ткацького верстату вдалося спряжене волокно в нитку вплести в тканину, із якої пізніше стали виготовляти не тільки одяг та побутові речі, вірьовки, канати, а й парусину для корабельних вітрил. Таким чином, коноплі стали досить розповсюдженою стратегічною культурою. В дореволюційній Росії вони висівались в різних регіонах на загальній площі близькій до мільйона га, що складало біля 80% посівів всієї Європи. Принагідно зазначити, що в передвоєнній Україні коноплі висівались на 140 тис. га, займаючи біля чверті посівів СРСР.

Внаслідок повсюдного вирощування конопель як в північних, так і в південних регіонах

на протязі багатьох віків утворились, так звані, місцеві сорти, або кряжі, які представляли собою найбільш адаптовані до умов вирощування популяції, сформовані в основному під дією таких методів народної селекції як «молочка» та «січка». Перший сприяв формуванню однорідного стеблостою з кращою якістю волокна при компактному суцвітті, а другий – більш розгалуженого, схильного до вищого урожаю насіння. Вирощування конопель від північних і включно до південних регіонів проявилось у 3-х екотипах: північному, середньоросійському і, відповідно, південному. При однаковому вмісту волокна в стеблах найбільша урожайність була характерна для південних конопель, які були більш високорослими і відзначались тривалішим періодом вегетації.

Мета. Селекційна робота з вивчення і поліпшення місцевих сортів розпочалась з 1925 р. на Шатилівській дослідній станції (Орловська обл. РФ), а з 1931 р. – на Глухівській (Сумська обл.), Горецькій (Могилівська обл., Білорусь) Анучинській (Пензенська обл., РФ) та Азово-Чорноморській (Запорізька обл.) [1].

Величина урожайності волокна залежить від маси вирощених стебел з одиниці площі і вмісту у них волокна. Оскільки селекцією на збільшення волокнистості ніхто не займався, то урожай загального волокна залежав від маси вирощених стебел, яка напряду пов'язана з висотою рослин. Отже, високорослі південні коноплі відзначались і більшою урожайністю. За таких умов найбільш швидкими заходами збільшення урожаю волокна конопель в середньоросійській зоні стала акліматизація південних конопель. Перші кроки селекції на збільшення вмісту волокна в стеблах і, відповідно, урожаю, були зроблені проф. Г.И. Сенченко [2].

Матеріали і методи

Ефективність штучного добору, як указував Ч.Дарвін [3], в значній мірі залежить від (цит.) «...здатності дослідника відбирати зазедве помітні відмінності, які однак виявляються спадковими і які можуть накопичуватись до тих пір, доки результати їх не стануть очевидними для кожного». Спроби дослідників на перших порах наукової селекції відбирати рослини за висотою, товщиною чи другими показниками стебла в надії збільшити вміст волокна виявились невдалими, доки проф. Г.І. Сенченко не розробив метод оцінки рослин за прямими ознаками. Збільшення вмісту волокна стало складовою загальної селекції на створення високопродуктивних сортів дво- та однодомних конопель без наркотичних властивостей [4, 5].

Оскільки коноплі є безпелюстковою анемофільною з чітко проявленими ознаками статевого диморфізму рослиною, селекційний матеріал потребує гарантованої просторової ізоляції для збереження сортових відмінностей. Багатолітньою селекційно-насінницькою практикою встановлено, що метод сімейно-групового добору виявився найбільш ефективним, бо дозволяє впевнено контролювати рослини за всіма озна-

Результати та обговорення

У результаті доборів в перші 3 роки перевищення волокна в селекційному матеріалі по вихідним сортам складало 0,2; 0,5 і 0,6 %, а в останні – 1984 і 1985 рр. – 19,6 і 19,3 % (табл. 1).

Систематичний добір на збільшення вмісту волокна в стеблах дводомних конопель знайшов своє вираження в перших трьох сортах: Глухівський 1 (автори Г.І. Сенченко, Є.С. Гуржій, 1958), Глухівський 7 (Г.І. Сенченко, Г.Й. Аринштейн, 1963) і Глухівський 10 (Г.І. Сенченко, В.Г. Вировець, 1968). Результати селекційного сортопробування приведені в табл. 2.

При майже однаковому урожаю стебел та близькому урожаю насіння сорт Глухівський 1 перевищує Новгород-Сіверський за урожаєм всього волокна на 25,0 і в тому числі довгого – на 36,6% за рахунок більшого виходу волокна.

Через 10 років після першого добору вміст волокна в стеблах конопель збільшився до 22 %, або перевищував вихідний матеріал на 4,7 %; через 21 рік (1965), відповідно, до 29 і 11,8 %;

ками. Створений вихідний матеріал методом гібридизації, мутагенезу чи поліплоїдії тощо піддається подальшому поліпшенню шляхом інтенсивного систематичного добору за біологічними і сільськогосподарськими ознаками.

Таким чином, селекція в перші роки діяльності Інституту на збільшення урожаю волокна проводилась одночасно двома методами – акліматизації південних конопель в середньоросійській зоні і добором на підвищення вмісту волокна в стеблах. За вихідний матеріал був вибраний місцевий сорт або кряж – Новгород-Сіверський, створений внаслідок тривалої народної селекції, який найбільше пристосувався до умов вирощування і в певній мірі відповідав вимогам коноплярів тих часів. Аналіз стебел індивідуальних рослин сорту Новгород-Сіверський, вирощених в типових умовах в 1946 р., показав, що вміст волокна в стеблах коливається в межах 8,5–27,4 %. При цьому коефіцієнт варіації цієї ознаки складав 16,1 %, а маси волокна – 41,5 %. Слід також зазначити, що вміст волокна в рослинах інших сортів в той період змінювався від 8,22 до 27,39 % [1].

через 30 (1974) до 34,6 (вихідний сорт не висівався) і через 40 (1984) – до 34,8 і 19,6 %. Як видно, різниця в 19,6 %, що відображає 40-разовий добір на збільшення вмісту волокна перевищувала його початковий рівень. Майже в 2,5 рази збільшився вміст волокна у порівнянні з першим добором, коли цей показник у селекційному матеріалі складав 14,1 %.

Вражаюче зростання вмісту волокна в стеблах конопель стало наслідком цілеспрямованої формуючої дії, яка більш чітко розкривається в часовому просторі на прикладі нових елітних рослин. Відбираючи для потомства найбільш волокнисті рослини, цілеспрямовано змінюється склад популяції, у якій з'являються рослини з новими ознаками, які взагалі не були характерні для попередніх років (табл. 3).

Аналіз відібраних елітних рослин в 1986 р., середній вміст волокна у яких складає $32,9 \pm 0,84$, свідчить про те, що > 40 % рослин мають вміст вище 34 %.

Таблиця 1. Вплив систематичного добору на збільшення вмісту волокна в стеблах сорту дводомних конопель Глухівський 1, 1945–1985 рр.

Рік	Вміст волокна в стеблах, %		Перевищення селекційного матеріалу над вихідним сортом
	вихідного сорту	селекційного сорту	
1945	13,9	14,1	0,2
1946	16,4	16,9	0,5
1947	18,0	18,6	0,6
1948	13,0	14,3	1,3
1949	14,5	17,6	3,1
1950	15,2	17,8	2,6
1951	17,4	19,8	2,4
1952	16,9	19,9	3,0
1953	14,7	18,7	4,0
1954	15,3	19,7	4,4
1955	17,3	22,0	4,7
1956	14,0	20,4	6,4
1957	16,7	24,1	7,4
1958	15,5	23,2	7,7
1959	16,1	24,0	7,9
1960	13,9	21,2	7,3
1961	14,7	23,0	8,3
1962	14,4	22,3	7,9
1963	16,8	25,1	8,3
1965	17,2	29,0	11,8
1966	16,6	29,1	12,5
1967	15,9	29,7	13,8
1968	16,1	30,2	14,1
1969	15,1	29,2	14,1
1970	16,9	32,7	15,8
1971	–	30,4	–
1972	18,8	31,9	13,1
1973	18,9	33,4	14,5
1974	–	34,3	–
1975	–	32,6	–
1976	–	35,0	–
1977	19,1	34,8	15,7
1978	17,7	34,0	16,3
1979	–	29,1	–
1980	13,8	31,2	17,4
1981	9,0	31,0	21,0
1982	–	32,2	–
1983	–	32,5	–
1984	15,2	34,8	19,6
1985	14,2	33,5	19,3

У процесі цілеспрямованого добору спостерігається поступове «вимивання» рослин з низьким вмістом і збільшення долі високоволокнистих рослин, з поступовим вирівнюванням популяції за даною ознакою. Якщо коефіцієнт варіації вмісту волокна в індивідуальних рослин в 1945 і 1950 рр. складав, відповідно, 18,5 і 16,4

%, то в 2012 р. у сортів ЮСО-31, Глесія, Гляна і Вікторія – 9,5; 8,4; 9,0 і 8,7 %. Зниження коефіцієнту варіації в останні роки свідчить про те, що систематичний цілеспрямований добір у напрямку збільшення вмісту волокна наближається до свого апогею.

Таблиця 2. Характеристика сорту Глухівський 1 у порівнянні з вихідним сортом Новгород-Сіверські коноплі, 1948–1959 рр., Г.І. Сенченко

Сорт	Урожай, ц/га				Вихід волокна, %		Вегетаційний період, днів
	стебел	насіння	волокна всього	в т.ч. довгого	всього	в т.ч. довгого	
Новгород-Сіверський	50,2	8,6	9,1	6,3	19,0	13,5	119
Глухівський 1	51,7	7,9	11,4	8,6	22,4	16,9	120

Успішні дії селекції на збільшення вмісту волокна були перенесені і на інші сорти. Використання високоволокнистого сорту Глухівські 10 в якості батьківської форми привело до створення цілої низки високоволокнистих сортів (дво- та однодомних конопель), таких як ЮС-8, ЮС-22, ЮСО-42, ЮСО-45, Глухівські 46 та інших не тільки в нашій країні, а й за кордоном.

На прикладі ряду сортів продемонстровано порушення давно установлених кореляційних зв'язків між величиною урожайності і тривалістю вегетаційного періоду та між урожаєм стебел

(соломи) і урожаєм волокна, що значно розширює можливості для селекції.

Збільшення вмісту волокна в стеблах конопель не було окремою однобічною дією, воно було вплетене в загальний комплекс ознак, характерних для нових сортів, які відрізнялись не тільки високою волокнистістю, а одночасно зберігали високу якість волокна при оптимальних врожаєх стебел та насіння. Нові сорти зберігають оптимальний період вегетації та є стійкими до пошкодження шкідниками та хворобами.

Таблиця 3. Динаміка зміни популяції конопель за вмістом волокна в стеблах елітних рослин під дією цілеспрямованого добору, 1945–1986 рр.

Рік	Вміст волокна, %	Диференціація рослин за вмістом волокна, %										
		6,0–9,5	9,6–13,0	13,1–16,5	16,6–20,0	20,1–23,5	23,6–27,0	27,1–30,5	30,6–34,0	34,1–37,5	37,6–41,0	>41,0
1945	14,6 ± 0,15	1,2	18,7	58,3	18,4	2,2	0,9	0,3	–	–	–	–
1955	19,2 ± 0,90	–	1,2	14,5	50,8	27,8	5,2	0,4	0,1	–	–	–
1959	23,7 ± 0,07	–	0,2	2,0	6,8	25,5	58,4	5,8	1,2	0,1	–	–
1975	31,3 ± 0,10	–	–	–	0,1	1,1	8,9	30,6	37,6	18,3	2,7	0,7
1980	31,6 ± 1,05	–	–	–	–	0,4	9,2	27,1	39,9	20,4	1,5	1,5
1986	32,9 ± 0,84	–	–	0,5	0,5	1,1	9,8	18,5	25,0	28,8	12,0	3,8

Збільшення вмісту волокна в селекційних сортах у 2–2,5 рази в порівнянні з сортами-кряжами, виходячи з цілісності рослинного організму, здавалось може привести до порушення гармонійного формування волокна і деревини, завдяки чому могла б знизитись стійкість до вилягання. Проведені в динаміці анатомічні дослідження стебел однодомних сортів конопель з вмістом волокна в межах 24–35% не підтвердили цього припущення [6, 7].

Селекційна робота з коноплями не обме-

жувалась одним напрямком, наприклад підвищенням вмісту волокна в стеблах, як однією з головних умов збільшення урожаю волокна. Одночасно з цим проводилась селекція на створення нових сортів з більшим урожаєм соломи (стебел) порівняно з сортами середньоросійського типу шляхом схрещування батьківських форм, які походили з різних еколого-географічних зон. Створений перспективний гібридний матеріал потребував подальшого підвищення вмісту волокна в стеблах, для якого з

успіхом був залучений перевірений багаторазовий сімейно-груповий добір за прямими ознаками, що привело до створення нового сорту ЮС-6, вдало об'єднуючого одночасно в собі підвищений урожай стебел з високим вмістом волокна [8].

Нагальна вимога коноплярів щодо створення однодомних конопель також завершувалась багаторазовим добром на створення однорідної популяції стабільної за ознакою однодомності з одночасним підвищенням волокна в стеблах, які за продуктивністю завдяки цим заходам зрівнялись з дводомними коноплями [9].

Для посилення боротьби з розповсюдженням наркоманії також була вперше в світі задіяна селекція, як нетрадиційний метод, якою передбачалось створення ненаркотичних конопель. Із апробованих методів селекції систематичний сімейно-груповий добір виявився найбільш ефективним, завдяки якому з 1980 р. було районувано перші три сорти ЮСО-14, ЮСО-16 та Дніпровські однодомні 6 з вмістом тетрагідроканабінолу (ТГК) не більше 0,2 % [10]. Роз-

ширення досліджень в цьому напрямку та створення різнобічного вихідного селекційного матеріалу сприяло виведенню нового сорту Вікторія, який з 2011 року занесений до держреєстру. Слід зазначити, що в цьому сорту ТГК взагалі відсутній, але сорт відзначається високою продуктивністю і не пошкоджується шкідниками і хворобами [11, 12].

Успішні результати селекції стали можливими не тільки завдяки застосуванню ефективного методу добору у різних напрямках при вдалому поєднанні з іншими методами, але і напруженій роботі школи селекціонерів, яку заснували видатні вчені доктори сільськогосподарських наук, професори Г.І. Сенченко та Г.Й. Аринштейн. Створений сучасний селекційний матеріал в вигляді нових сортів не є вершиною селекції, його можна використати для виведення нових більш високопродуктивних з новими цінними властивостями сортів, застосувавши сучасні і надсучасні методи, дозволяючі отримувати і міжвидові гібриди.

Висновки

Цілеспрямований добір є досить ефективним заходом у напрямку підвищення продуктивності конопель. В процесі добору штучно створюється оновлена популяція, в якій відбувається формоутворюючий процес. В результаті цього виникають особини з новими якостями. На

прикладі нових високоволокнистих сортів відбувається порушення давно установлених кореляційних зв'язків між урожаєм і тривалістю вегетаційного періоду та між урожаєм стебел і урожаєм волокна, що значно розширює можливості селекції.

Література

1. Сенченко Г.И. Высоковолокнистые сорта конопли и методы их выведения : автореф. дисс. ... на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук / Г. И. Сенченко. – Л., 1965. – 57 с.
2. Сенченко Г.И. Новый метод в селекции конопли / Г.И. Сенченко, Е. С. Гуржий // Лен и конопля. – 1957. – № 5. – С. 32–34.
3. Дарвин Чарлз. Изменение домашних животных и культурных растений / Чарлз Дарвин // Сочинения / Чарлз Дарвин ; под ред. Е. Н. Павловского. – М.-Л.: АН СССР, 1951. – Т. 4. – 884 с.
4. Сенченко Г.И. Методические указания по селекции конопли и производственной проверке законченных научно-исследовательских работ / Г.И. Сенченко, А.И. Жатов, В.Г. Вировец. – М.: ВАСХНИЛ, 1980. – 30 с.
5. Методические указания по селекции конопли на снижение содержания каннабиноидов / В.Г. Вировец, Л.М. Горшкова, Г.И. Сенченко [и др.]. – М.: ВАСХНИЛ, 1985. – 14 с.
6. Вировец В.Г. Високий вміст волокна і механічна функція стебел конопель / В.Г. Вировец, Л.Г. Онупрієнко // Нові наукові дослідження у льонарстві та коноплярстві України : наук.-техн. конф. молодих вчених, 23 лист. 2006 р. – Суми, 2006. – С. 30–39.
7. Онупрієнко Л.Г. Ефективність добору на збільшення вмісту волокна при збереженні механічної функції стебел : автореф. дис.. на здобуття наук. ступеня канд.. с.-г. наук : спец. 06.01.05 «Селекція рослин» / Л.Г. Онупрієнко. – Х., 2008. – 20 с.
8. Сенченко Г.И., Демкин А.П. Высоковолокнистый сорт ЮС-6 в новых районах страны // Лен и конопля. – 1966. – № 6. – С. 34–36.
9. Сенченко Г.И., Вировец В.Г. Основные итоги селекционной работы по конопле // Биология, возделывание и первичная обработка конопли и кенафа: сб. научн. тр. – 1987. – Вып. 41. – С. 3–12.
10. Вировец В.Г., Горшкова Л.М., Ситник В.П. [и др.] Новые сорта однодомной конопли / В. Г. Вировец, // Лен и конопля. – 1980. – № 6. – С. 28–29.
11. Вировец В.Г., Горшкова Л.М., Ситник В.П. [и др.] Наркотическая активность конопли (*Cannabis sativa* L.) и перспективы селекции на снижение содержания каннабиноидов // Сельскохозяйственная биология. –

1991. – № 1. – С. 34–49.

12. Лайко І.М., Вировець В.Г., Кириченко Г.І. Вікторія – новий сорт безнаркотичних конопель // Аграрна наука – виробництво. – 2012 – № 2 (60). – С. 23.

VYROVETS V.H.¹, LAYKO I.M.¹, KYRYCHENKO H.I.¹, HORSHKOVA L.M.²

¹ *Research Station of Bast Crops of the Institute of Agriculture of Northern-East NAAS Ukraine, 41400, Hlukhiv, Sumy region, Tereschenkiv str., 45, e-mail: ibc@sm.ukrtel.net*

² *Hlukhiv National Pedagogical University named by Oleksandr Dovzhenko Ukraine, 41400, Hlukhiv, Sumy region, Kyiv-Moskow Street, 24*

INEXHAUSTIBLE POSSIBILITIES OF SELECTION IN EXAMPLE OF SOWING HEMP

Aims. To increase fiber yield by the way of it's increasing in stems. **Methods.** Family-group selection of the highest fiber content plants by the stems evaluation by direct signs. **Results.** At first three years exceeding of fiber content in breeding material in comparison with initial variety was 0,2; 0,5 and 0,6 % and in last – 1984 and 1985 – 19,6 and 19,3 %. So in 40 years the fiber content is 34,8 %. It increased almost at 2,5 times. **Conclusions.** As a result of purposeful selection the main population was created in which the form-forming process is passing and assisting for appearance of new high fiber content plants.

Key words: sowing hemp, systematic selection on high fiber content.

ВІРИЧ П.А., МАКОВЕЙЧУК Т.І., КАМЕНЧУК О.П.

Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

Україна, 03022, Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: Sphaenodon@ukr.net

ВПЛИВ ТРИНЕКСАПАК-ЕТИЛУ НА НАКОПИЧЕННЯ ОРТОФОСФАТІВ РОСЛИНАМИ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Важливим елементом інтенсивних технологій вирощування зернових є запобігання виляганню, яке істотно зменшує продуктивність і якість зерна. Необхідність таких заходів обумовлена застосуванням високих доз азотних добрив для максимального розкриття потенціалу продуктивності сортів. За таких умов, особливо у поєднанні з перезволоженістю та низькою інсоляцією, стебло зернових злаків здатне витягуватися і втрачати механічну міцність. Тому, застосовують регулятори росту, які забезпечують збільшення міцності стебла рослин. До даного класу речовин відносяться ретарданти – штучні регулятори росту рослин різної хімічної природи (онієві сполуки, N-гетероциклічні, ацилциклогександіони тощо). Вони здатні інгібувати синтез фітогормонів, блокувати їх взаємодію із клітинними рецепторами, індукувати синтез етилену, абсцизової кислоти та інших сполук, які зменшують інтенсивність росту меристематичних тканин.

Однією з таких сполук, яку починають широко використовувати в сільськогосподарській практиці, є тринексапак-етил (ТЕ), який є основною діючою речовиною ретарданту «Моддус» (Syngenta). Його основна дія спрямована на інгібування активності ГК-20-оксидази, що ка-

талізує кінцеві етапи синтезу гіберелінової кислоти. ТЕ належить до групи циклогександіонів, до цієї ж групи належать і речовини з грамініцидною активністю [1]. Попередніми дослідженнями встановлено вплив ТЕ на вміст іонів у рослинах [2, 3]. Дані щодо дії ТЕ на вміст ортофосфатів відсутні. Фосфор є одним із важливих мікроелементів рослин і входить до складу білків, нуклеїнових кислот, фосфоліпідів, фосфорних ефірів цукрів, нуклеотидів (АТФ, НАДФ), вітамінів тощо. Також він контролює активність ключових ферментативних реакцій та регулює різні шляхи метаболізму [4].

Достатня кількість фосфорних добрив дозволяє рослині краще засвоювати азот, калій, магній; дає енергію для проростання насіння; збільшує кущистість рослин; впливає на ріст і розвиток рослин [5]; підвищує стійкість до посухи та запобігає виляганню; підвищує стійкість до хвороб; прискорює досягання та підвищує якість зерна [6] і плодів.

Фосфор – важливий елемент живлення рослин, який засвоюється ними у формі фосфат-іонів $(PO_4)_3^-$ та ортофосфату $H_2PO_4^-$. Більша ж частина сполук фосфору в ґрунті знаходиться у малорозчинній формі, що обмежує їх засвоєння рослинами. Хоча загальний вміст Р у ґрунті мо-

же бути досить високим, це часто не вказує на його доступність для рослин. Небагато типів ґрунтів здатні забезпечити в достатній кількості цим елементом види культурних рослин. Тому, в сільському господарстві часто використовується практика внесення фосфорних добрив для збереження продуктивності та отримання високих врожаїв. Відновлення вмісту фосфору, на період вегетації, досить низьке через вміст у ґрунті близько 80 % його нерозчинних сполук – солей кальцію, заліза, алюмінію та фіксації органічними речовинами [7].

Відношення мінеральних форм до органічних складає близько 1:4. Останній присутній у вигляді, наприклад, фітинової кислоти (інозитолгексафосфату) тощо [8].

Геометрія і морфологія коренів рослин

Матеріали і методи

Стерилізоване насіння (опромінювач бактерицидний ОБН-35 м) озимої пшениці *Triticum aestivum* L. сорту Смуглянка пророщувалося на чашках Петрі протягом 7 днів у термостаті, за температури 18°C. Кожна чашка містила 25 зерен. На третю добу проводили обробку ТЕ, концентрація 10^{-6} М, в кількості 2 мл та підживлення фосфатом – 2 мл з концентрацією 0,22 г/л HPO_4^{2-} на 1 чашку Петрі. Контролем слугували зразки оброблені лише розчином ортофосфату з відповідною кількістю дистильованої води.

Надземну частину проростків зважували по 2 г, гомогенізували та екстрагували вільний

Результати та обговорення

Отримані результати наведені на рис. 1.

Як було вже сказано вище, ортофосфат входить до складу великої кількості біомолекул рослин. Без його участі не відбуваються процеси дихання, фотосинтезу, утворення біологічно активних речовин, транспорт та трансдукція зовнішніх і внутрішніх сигналів. У рослинних тканинах він присутній в органічній формі і у вигляді ортофосфорної кислоти та її солей. Поглинається в окисленій формі (H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}). В такому вигляді ортофосфат включається до складу органічних сполук і переходить від однієї молекули до іншої, не зазнаючи будь-яких

Висновки

Важливим компонентом ретардантної дії тринексапак-етилу є вплив на накопичення вільних форм ортофосфату в наземній частині рос-

важливі для максимального поглинання Р, так як коренева система, що має вище співвідношення площі поверхні до об'єму, буде ефективніше досліджувати більшу кількість ґрунту [9]. З цієї причини, також, важливі мікоризи, так як гіфи грибів значно розширюють площу контакту з ґрунтом. Деякі види рослин здатні формувати спеціалізовані корені у відповідь на дефіцит фосфору. Вони виділяють велику кількість органічних кислот (до 23 % від продукції фотосинтезу), які підкислюють ґрунт і хелатують іони металів та забезпечують кращу іmobilізацію нерозчинних форм фосфору [10].

Важливим є дослідження впливу ТЕ на метаболізм фосфору в рослині. Тому, метою наших досліджень було визначити вміст вільного ортофосфату в тканинах рослин за дії ТЕ.

ортофосфат протягом 15 хв. Екстракт фільтрували (0,45 мкм). В аліквоті визначали вміст ортофосфату за допомогою іонного хроматографа IC PRO 881 Metrohm (Швейцарія) з кондуктометричним детектором (діапазон від 0 до 15 000 мкСм/см) і колонкою Metrostep A Supp 5 250x4 мм, елюент – карбонатний буфер (3,2 мМ Na_2CO_3 , 1 мМ NaHCO_3 ; реактиви Merck, Німеччина). Повторність проведення дослідів трикратна, аналітична п'ятикратна. Первинну обробку даних здійснювали за допомогою програми Magic Net IC v. 1.1 Metrohm (Швейцарія), статистична обробка – Microsoft Excel 2010.

змін [11].

Забезпечення даним аніоном тканин з високим рівнем енергетичного та пластичного обміну є надзвичайно важливим для молодих рослин пшениці. Наші дослідження показали, що ТЕ здатен впливати на метаболізм ортофосфатів у рослин, про що свідчить збільшення їх кількості у пагонах на 45 %.

Можна припустити, що продукти метаболізму ТЕ можуть впливати на гомеостаз іонів ортофосфорної кислоти, забезпечуючи, таким чином, їх доступність для меристем та клітин, що диференціюються

лин озимої пшениці, що може сприяти реалізації генетичного потенціалу пшениці вже на ранніх стадіях росту і розвитку.

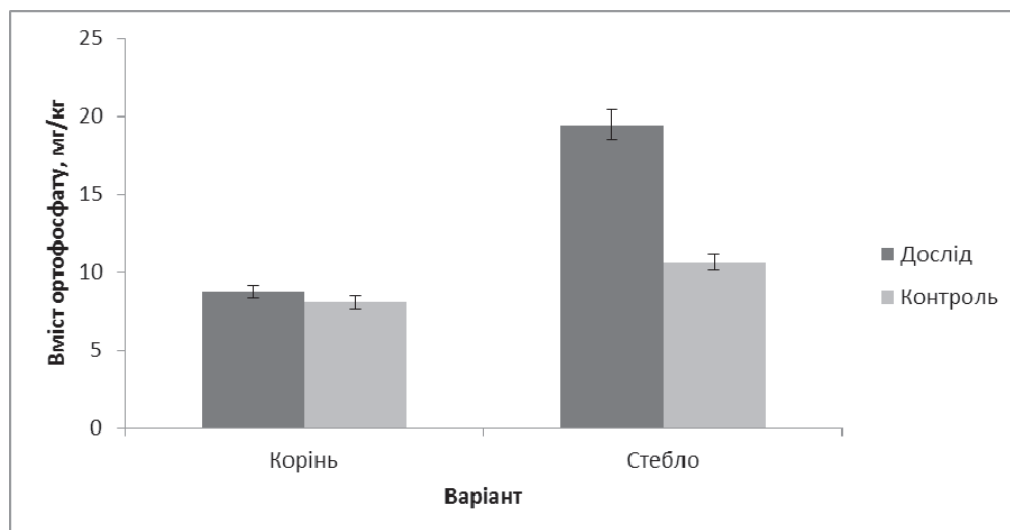


Рис. 1. Вплив тринексапак-етилену на вміст вільного ортофосфату в рослинах озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.) сорту Смуґлянка, мг/кг

Література

1. Fagerness M. J., Bowman D. C., Yelverton F. H., Ruffy Th. W. Nitrogen use in turf bermudagrass, as affected by trinexapac-ethyl / Crop Science. – 2002. – Vol. 44, № 2. – P. 595–599.
2. Вирич П.А., Маковейчук Т.И., Швартау В.В. Влияние тринексапак-этилена на распределение свободного цитоплазматического кальция в интактных корнях озимой пшеницы / Досягнення і проблеми генетики, селекції і біотехнології (зб. наук. праць) : IX з'їзд УТГіС ім. М.І. Вавилова (Алушта, 24-28 вересня 2012 р.). – К.: Логос, 2012. – Т. 3. – С. 422–426.
3. Вірич П.А., Маковейчук Т.И., Швартау В.В. Вплив тринексапак-етилену на вміст аніонів у рослинах *Hordeum vulgare* L. / Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 3. – С. 27–30.
4. Theodorou M.E., Plaxton W.C. Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation // Plant Physiol. – 1993. – № 101. – P. 339–344.
5. Bolland M.D.A., Baker, M.J. High phosphorus concentrations in seed of wheat and annual medic are related to higher rates of dry matter production of seedlings and plants // Aust J. Exp. Agric. – 1988. – № 28. – P. 765–770.
6. Marco D. Effect of seed weight, and seed phosphorus and nitrogen concentrations on the early growth of wheat seedlings // Aust J. Exp. Agric. – 1990. – № 30 (4). – P. 545–549.
7. Швартау В.В., Гуляев Б.И., Карлова А.Б. Особенности реакции растений на дефицит фосфора // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т. 41. – №3. – С. 208–220.
8. Richardson A.E. Soil microorganisms and phosphorus availability // Soil Biota. – 1994. – P. 50–62.
9. Lynch J. Root architecture and plant productivity // Plant Physiol. – 1995. – № 109. – P. 7–13.
10. Marschner H. Mineral Nutrition of Higher Plants // Academic Press, San Diego, CA – 1995. – 889 p.
11. Richardson A.E. Regulating the phosphorus nutrition of plants: molecular biology meeting agronomic needs // Plant and soil. – 2009. – Vol. 322. – I. 1–2. – P. 17–24.

VIRYCH P.A., MAKOVEYCHUK T.I., KAMENCHUK O.P.

Institute of Plant Physiology and Genetics NAS of Ukraine

Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str. 31/17, e-mail: Sphaenodon@ukr.net

INFLUENCE OF TRINEXAPAC-ETHYL ON ACCUMULATION ORTHOPHOSPHATE IN PLANTS OF WINTER WHEAT (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Aims. Phosphate is one from necessary nutritious elements for plants. We studied the influence of trinexapac-ethyl (TE) (Moddus 250 к.е) on the accumulation of phosphate ions in seeding of winter wheat varieties Smuglyanka. **Methods.** 3-day seedlings of winter wheat treated orthophosphate and trinexapac-ethyl solutions. Samples treated only phosphate was control. **Results.** TE increases the quantity of orthophosphate in the stem on 45 % that is the effect of TE on the absorption and transport activity of phosphorus in wheat plants, thus contributing to the accumulation of free forms in the ground part of the plant. **Conclusions.** The data indicate that TE influence the absorption and transport activity of phosphorus in plants of winter wheat.

Key words: phosphorus, trinexapac-ethyl, winter wheat.

ВЛАСЕНКО В.А., ОСЬМАЧКО О.М., БАКУМЕНКО О.М.

Сумський національний аграрний університет

Україна, 40021, м. Суми, вул. Кірова, 160, e-mail: vlasenkova@ukr.net

СТІЙКІСТЬ ПРОТИ БУРОЇ ІРЖІ У КОМЕРЦІЙНИХ СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ З ПШЕНИЧНО-ЖИТНИМИ ТРАНСЛОКАЦІЯМИ

Пшениця уражується великою кількістю хвороб, які є шкодочинними та призводять до значних втрат урожаю [1]. У північно-східному регіоні України ця культура також схильна до ряду грибних захворювань (борошнистої роси, бурої іржі, твердої сажки). Вона також може сильно уражатися кореневими гнилями, септоріозом листя та колосу, фузаріозом колосу, а озима – ще й сніговою пліснявою. Стійкість до цих хвороб проявляється відносно слабо і має полігенний характер. Це пов'язано з тим, що вказані хвороби зумовлюють факультативні паразити [2]. Існує багато шляхів підвищення продуктивності пшениці. Один із них – вирощування сортів місцевої селекції, найбільш адаптованих до конкретних умов довкілля. Тому однією з основних проблем, яку намагаються вирішити селекціонери – створення сортів стійких до даних патогенів.

У пшениці власних генів стійкості до збудників захворювань не так вже й багато. У зв'язку з цим важливим завданням є створення генетичної різноманітності за рахунок використання потрібних генів резистентності від інших видів. Найбільші результати в селекції на стійкість були досягнуті при використанні споріднених видів пшениць, а також представників видів *Aegilops*, *Secale*, *Agropyron*, що несуть гени стійкості до ряду захворювань [3]. Проте, запас генів стійкості скорочується по мірі їх використання в селекції. Існує декілька шляхів використання генів стійкості [2], на яких базуються програми селекції на імунітет: створення конвергентних сортів, які б містили декілька олігогенів стійкості в одній рослині; створення багатолінійних сортів-популяцій; створення сортів на основі горизонтальної (неспецифічної) стійкості; створення трансгенних сортів.

Стійкість до бурої листової іржі пшениці (*Puccinia recondita* Rob. et Desm f. *tritici* Erikss.) – відбувається за законом «ген-на-ген», тому ефективність одного і того ж гена неоднакова у різних регіонах і залежить від складу популяції паразита [4]. Виявлено ефективні гени стійкості до расового складу патогена – Lr9, Lr13, Lr15, Lr24 та ін., (усього 11 генів) [5]. Стійкість до збудника залежить від генотипів рослини-господаря і патогена. Відомо, що донорами

стійкості є види *Triticum boeoticum*, *Triticum timopheevii*, *Triticum durum*, *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum*, *Aegilops squarrosa*, *Aegilops speltoides* [6].

Пшенично-житні транслокації (ПЖТ) набувають широкого використання селекціонерами, для покращення господарсько-цінних ознак пшеничних генотипів. Серед сортів пшениці розповсюдженими є пшенично-житні транслокації 1BL/1RS (транслокація короткого плеча хромосоми 1R жита на довге плече хромосоми 1B пшениці) та 1AL/1RS (транслокація короткого плеча хромосоми 1R жита на довге плече хромосоми 1A пшениці), наявність яких забезпечує генетичний контроль продуктивності та адаптивності [3].

Слід зазначити, що пошук донорів комплексної стійкості проти грибкових захворювань, а також короткостебельності закономірно привів селекціонерів до використання форм м'якої пшениці з 1BL/1RS хромосомною транслокацією. Такі форми містять у своєму генотипі гени стійкості проти бурої іржі (Lr26), борошнистої роси (Pm8), стеблової іржі (Sr31), жовтої іржі (Yr9), вірусу смугастої мозаїки (Wsm), попелиці (Gb). Пшениці, які несуть генетичний матеріал від 1R хромосоми жита, мають укорочене стебло і є більш продуктивними при достатньому забезпеченні впродовж вегетаційного періоду вологою. Ця генетична особливість притаманна більшій частині сучасних (створених після 1989 р.) сортів селекції Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла Національної академії аграрних наук України [3].

Серед комерційних сортів США уперше були виявлені носії ПЖТ 1AL/1RS. Першим сортом серед озимих пшениць з цією транслокацією став Amigo, допущений до виробничого використання з 1976 р. Цей ряд сортів – носіїв генетичного компонента 1AL/1RS – забезпечує їм стійкість до попелиці *Schizaphis graminum* (ген Gb2, біотипів А, В, С) [7], до бурої (Lr 24) і стеблової іржі (Sr 24) [8], до борошнистої роси (Pm17) [9] та інше. Присутність у пшениці 1AL/1RS транслокації, на відміну від 1BL/1RS, не призводить до різкого зниження показників хлібопекарської якості зерна [10]. Уперше в Україні з її участю був створений сорт Експромт

[11], а на його основі – перший серед занесених до Державного реєстру України – Колумбія [12], а також пізніше – Смуглянка, Веснянка, Золотоколоса та інші.

Отже, для створення сортів пшениці м'якої, стійких проти хвороб листя, все більшого значення набуває використання джерел з інт-

Матеріали і методи

Досліди проводилися на дослідному полі навчально-науково-виробничого комплексу Сумського національного аграрного університету (ННВК СНАУ). Поля розташовані в Сумському районі, що входить до північно-східної частини Лісостепу України. Ґрунти – чорноземи типові, добре оструктурені, вміст гумусу коливається близько 3,0%. Реакція ґрунтового розчину близька до нейтральної.

Клімат даної території континентальний, для якого характерні наступні показники: річна сума температур вище 10°C в межах 2500–2650, річна кількість опадів 470–560 мм, тривалість безморозного періоду 150–170 днів. Середні багаторічні температури взимку – 6 °С, весною 9–10°C, влітку 17,5–18,5°C, восени 7–7,5°C. Гідротермічний коефіцієнт у період вегетації становить 1,1–1,2. Показники гідротермічних умов в 2010–2012 роки проведення досліджень відрізнялись від середніх багаторічних. Так, в період з вересня по серпень 2010/11 вегетаційного сезону випало 621,5 мм опадів, а 2009/10 – 479,4 мм. Середня температура повітря в ці роки була відповідно на 1,5 і 1,3°C вищою у порівнянні із середньою багаторічною (7,3°C).

Матеріалом для досліджень слугували 56 сортів пшениці м'якої озимої переважно української селекції (Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла НААНУ, Інституту рослинництва імені В.Я. Юр'єва НААНУ, Селек-

Результати та обговорення

У 2011 р. ураження рослин пшениці озимої хворобами листя мало середню ступінь. Вони проявилися на всіх сортах майже рівнозначно, що не дозволило провести їх достатню диференціацію. Тому, орієнтувалися на результати оцінки сортів при найбільш сильному прояві хвороб у 2010 р. Аналіз результатів досліджень показує, що комерційні сорти пшениці озимої, які занесені до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні, характеризуються різним рівнем стійкості до хвороб. Серед них виділяється група сортів селекції Миронівського інституту пшениці імені В.М. Ремесла НААНУ створених спільно з Інститутом фі-

рогресованим генетичним матеріалом від споріднених видів і родів.

Мета. Вивчення генетичного потенціалу українських комерційних сортів пшениці м'якої озимої вітчизняної та зарубіжної селекції за стійкістю проти бурої іржі в умовах Лісостепу України та зв'язок цієї хвороби з урожайністю.

ційно-генетичного інституту НААНУ та інших установ), які занесені до Державного реєстру сортів рослин, придатних для поширення в Україні.

Площа посівної ділянки – 1 м², повторність – 3-кратна за роками дослідження. Стандартами слугували сорти Подолянка (головний), Крижинка і Миронівська ранньостигла (допоміжні). Агротехніка при проведенні досліджень дотримувалася відповідно до загальноприйнятої для зони. Попередник – кукурудза на зелений корм. Сівбу проводили в оптимальні строки (23–27 вересня) ручною сівалкою СР-1М. Норма висіву насіння становила з розрахунку 5 млн. шт./га. Було проведено припосівне внесення мінеральних добрив препаратом Суперагро (N₁₅P₁₅K₁₅ д.р.) в кількості 100 кг/га і ранньовесняне підживлення аміачною селітрою (N₃₀ д.р.) в кількості 100 кг/га. Збирання врожаю проводили вручну.

Дослідження проводилися з використанням польових, лабораторних і математично-статистичних методів. Фенологічні спостереження, облік і оцінки, збирання врожаю проводили згідно загально прийнятої методики [13]. Оцінку стійкості рослин пшениці до бурої іржі проводили в період максимального розвитку хвороби в польових умовах, візуально, по мірі появи симптомів хвороби [14].

зіології рослин і генетики НААНУ. Це Колумбія, Смуглянка і Золотоколоса – сорти з груповою стійкістю проти найбільш поширених у Лісостепу України хвороб пшениці.

Екологічний градієнт істотно впливає на поширення і розвиток листових хвороб, зокрема бурої іржі. У наших дослідженнях досить проявилася диференціація досліджуваних сортів за стійкістю проти бурої іржі в 2010 р. (табл. 1). Найбільшу цінність представляють сорти з пшенично-житніми транслокації 1BL/1RS (Крижинка, Калинова) та 1AL/1RS (Колумбія, Смуглянка, Золотоколоса). Адаптивний потенціал цих комерційних сортів ґрунтується на підвищеній

резистентності до найбільш шкідливих хвороб, ймовірно завдяки генам Lr24, Lr26, Pm8, Pm17, Sr24, Sr31, що з'явилися в генотипах інтрогресуванням житнього компоненту. Проте, зважаючи на складний генотип вищезгаданих сортів, варто зауважити, що тут також можлива присутність більшої кількості генів стійкості проти хвороб, які забезпечують кумулятивну дію, що проявляється у горизонтальній стійкості до декількох хвороб. Загалом, імунна система при наявності великої кількості різних генів резистентності, на нашу думку, забезпечує більш високий рівень фізіологічної активності організму і спроможність протидіяти шкодочинним агентам.

Порівнюючи довжину періоду «сходи-колосіння» різних сортів варто зазначити, що пшениця Миронівська ранньостигла, яка на 4–7 днів має більш короткий вегетаційний період, уражувалась бурою іржею сильніше, ніж середньоранні (Колумбія і Золотоколоса) та середньостиглі сорти (Смуглянка, Подолянка, Крижинка, Калинова). Проте, у групі середньоранніх і середньостиглих кращими показниками стійкості проти бурої іржі виділяється група сортів, що має генетичний компонент ПЖТ 1AL/1RS (Колумбія, Смуглянка і Золотоколоса). Відсутність цього компонента у сортів Крижинка, Калинова та Подолянка свідчать про зниження стійкості проти бурої іржі.

Таблиця 1. Ураження різних сортів пшениці м'якої озимої бурою іржею, % (2010 р.)

Сорт	Показники поширення хвороби, %	Показники розвитку хвороби, %	Довжина періоду «сходи-колосіння», днів
Подолянка – контроль	20	5	225
Крижинка	10	2,5	226
Миронівська ранньостигла	30	5	219
Колумбія	5	1	223
Смуглянка	0	0	225
Золотоколоса	0	0	224
Калинова	10	2,5	226

Виділені сорти мають цінність для виробництва, оскільки не потребують витрат на хімічний захист проти бурої іржі і деяких інших листових хвороб пшениці. Також ці сорти можуть використовуватись в селекційній роботі, як донори генів стійкості.

Слід зазначити, що найбільш стійкі проти бурої іржі сорти в той же час виявляли резистентність і проти інших хвороб. Ці сорти мають

групову (комплексну) стійкість, а отже і втрати продуктивності рослин від негативного впливу хвороб тут знижуються. Особливо наочно це проглядається на сортах з пшенично-житньою транслокацією 1AL/1RS (Колумбія, Смуглянка, Золотоколоса). Вони забезпечили найбільшу врожайність (табл. 2); надбавка у середньому по досліді становила 3,3 ц/га.

Таблиця 2. Урожайність кращих сортів пшениці озимої, ц/га

Сорт	У 2010 р		У 2011 р		Середнє (\bar{x}) за 2 роки
	\bar{x}	відхилення від St + (-)	\bar{x}	відхилення від St + (-)	
Подолянка (St)	36,8	St	35,4	St	36,1
Колумбія	46,8	+10,0	39,9	+4,5	43,4
Смуглянка	49,5	+12,7	40,6	+5,2	45,0
Золотоколоса	51,2	+14,4	42,8	+7,4	47,0
Калинова	39,1	+2,3	39,9	+4,5	39,5
НСР 0,5		2,02		1,50	

Статистичні дані свідчать про те, що в останні роки врожайність зерна пшениці озимої в умовах північно-східного Лісостепу знизилася

до 25-40 ц/га. У наших дослідженнях за мінімального режиму живлення рослин урожайність сортів, стійких проти хвороб рослин, знаходи-

лась на рівні 45 ц/га, що складає нижній поріг прибутковості пшеничного зерновиробництва. Однак потенціал цих сортів набагато вищий. Якщо дотримуватися всіх агротехнічних заходів

виращування і створити найкращі умови розвитку культури, то можна отримувати урожайність в межах 45-110 ц/га, що даватиме прибуток.

Висновки

1. Кращими показниками стійкості проти хвороб, зокрема проти бурої іржі, характеризувалися серед сучасного українського комерційного сортименту пшениці м'якої озимої – Колумбія, Смуглянка, та Золотоколосо.

2. Порівняно вищу стійкість проти бурої іржі, як і в цілому до листових грибкових хвороб пшениці м'якої озимої у сортів Колумбія, Смуглянка і Золотоколосо обумовлено, очевидно, на-

явністю у них інтрогредованого генетичного матеріалу, що проявляється через присутню пшенично-житню транслокацію 1AL/1RS.

3. Наявність у сортів пшениці м'якої озимої пшенично-житньої транслокації обумовлює підвищену активність імунної системи рослин, що забезпечує формування резистентності проти шкідливих біотичних чинників та кращого показника зернової продуктивності.

Література

1. Лихочвор В.В. Рослинництво.– К.: Центр навчальної літератури, 2004. – 808 с.
2. Ковалишина Г.М. Селекція озимої пшениці на стійкість проти хвороб // Матеріали Міжнар. наук.-практ. конф. «Інтегрований захист рослин на початку XXI століття». – К., 2004. – С. 709–718.
3. Власенко В.А., Кочмарський В.С., Колючий В.Т., Коломієць Л.А., Хоменко С.О., Солоня В.Й. Селекційна еволюція миронівських пшениць / під. заг. ред. В.А. Власенка. – Миронівка, 2012. – 330 с.
4. Власенко В.А., Кадхім А.Д. Стійкість комерційних сортів пшениці озимої проти бурої іржі в умовах північно-східного Лісостепу України // Вісник Сумського національного аграрного університету: Агронімія і біологія. – 2012. – №2 (23). – С. 161–167.
5. Чекалін М.М., Тищенко В.М., Баташова М.Є. Селекція та генетика окремих культур : навчальний посібник. – Полтава: ФОП Говоров С.В., 2008. – 368 с.
6. Лісова Г.М. Становлення і сучасний стан генетики імунітету пшениці до збудника бурої іржі // Захист і карантин рослин. – 2001. – Вип. 47. – С. 45–55.
7. Sebesta E.E., Wood E.A., Porter D.R. et al Registration of Amigo wheat germplasm resistant to greenbug // Crop Sci. – 1995. – Vol. 35. – P. 293.
8. Рабинович С.В., Раурп W.J., Маркова Т.Ю. и др. Интрогрессивные линии пшеницы с генами устойчивости к болезням и вредителям, созданные в Центре генетических ресурсов пшеницы США // Генет. ресурсы культурных растений. Пробл. мобил., инвентар.: Тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф., Санкт-Петербург, 13-16 ноября 2001 г. – СПб.: ВИР, 2001. – С. 387–390.
9. Huen M., Friebe B., Bushuk W. Chromosomal location of the powdery mildew resistance gene of Amigo wheat : Phytopathology.– 1990. – Vol. 80.– P. 1129–1133.
10. Собко Т.А., Хохлов А.Н. Изучение селекционной ценности пшенично-ржаной транслокации 1AL-1RS сорта озимой мягкой пшеницы Amigo // Агробиотехнологии растений и животных: Тез. докл. Международ. конф. – К., 1997. – С. 71–72.
11. Патент на сорт рослин, Україна. Вид: Пшениця м'яка. Назва сорту: Експромт. Номер патенту 50. Дата реєстрації 15.11.2001. Номер заявки 96007012. Дата надходж. заявки 10.10.1996. Власник та код держави: Миронівський ін.-т пшениці ім. В.М. Ремесла УААН, UA. Автори: Животков Л.А., Шелепов В.В., Власенко В.А. та ін.
12. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2004 році (витяг) / Гол. ред.: В.В. Волкодав. – К.: Алефа, 2003. – 230 с.
13. Методика державного випробування сортів рослин на придатність до поширення в Україні: Загальна частина // Охорона прав на сорти рослин: Офіційний бюл. / Гол. ред. В.В. Волкодав.– К.: Алефа, 2003. – Вип. 1, ч. 3.– 106 с.
14. Бабаянец Л., Мештерхази А., Бехтер Ф. Методика селекции и оценки устойчивости пшеницы и ячменя к болезням в странах СЭВ. – Прага, 1988. – 321 с.

VLASEKO V.A., OSMACHKO O.M., BAKUMENKO O.M.

The Sumy National Agrarian University

Ukraine, 40021, Sumy, Kirov str., 160, e-mail: vlasenkova@ukr.net

RESISTANCE TO BROWN RUST IN COMMERCIAL WINTER BREAD WHEAT WITH WHEAT-RYE TRANSLOCATION

Aims. Studying the genetic potential of the Ukrainian commercial cultivars of winter bread wheat domestic and foreign breeding for resistance to brown rust in condition Forest-steppe of Ukraine and the relationship of this disease with yields. **Methods.** Studies were conducted using field, laboratory and mathematical-statistical methods. Assessment of plant resistance to brown rust of wheat was carried out in the period of maximum development of the disease in the field. Plant resistance was assessed visually as the onset of symptoms. **Results.** Cultivars – Columbia, Smuglyanka and Zolotokolosa with group resistance to the most common diseases in the Forest-steppe of Ukraine. The greatest value are varieties of wheat-rye translocation 1BL/1RS (Kryzhynka, Kalynova) and 1AL/1RS (Columbia, Smuglyanka, Zolotokolosa). **Conclusions.** A presence at the cultivars of wheat of bread winter – annual wheat-rye translocation stipulates the increased activity of the immune system of plants. It provides forming of resistance against harmful biotic factors and the best index of the grain-growing productivity.

Key words: Winter wheat, leaf rust, resistance, yielding capacity.

ВОЖЕГОВА Р.А., ЛАВРИНЕНКО Ю.О., ЛАШИНА М.В.

Інститут зрошуваного землеробства НААН

Україна, 73483, м. Херсон, смт. Наддніпрянське, e-mail: lavrin52@mail.ru

РОЗРОБКА МОДЕЛЕЙ ГІБРИДІВ КУКУРУДЗИ ГРУП ФАО 150-600 В УМОВАХ ЗРОШЕННЯ

Моделювання як метод досить широко почав використовуватись у різних сферах науки включаючи селекцію рослин. Методи моделювання багато в чому схожі, хоча специфіку його необхідно враховувати. Термін «моделювання» визначається як певний процес побудови та вивчення моделі об'єкту, системи або процесу [1,2].

Поняття модель сорту або гібриду визначається як науковий прогноз, що описує комбінацію ознак рослини, необхідну для забезпечення заданого рівня продуктивності, стійкості до біотичних та абіотичних умов середовища, якості та інших господарських показників [3].

А.А. Корчинський та співавтори, одним із головних принципів при теоретичному обґрунтуванні моделей сортів, приділяли генетичним закономірностям успадковування та реалізації господарських ознак в конкретних умовах вирощування та дії компенсаторних механізмів коли, наприклад, недостатній розвиток одних ознак рослини призводить до кращого розвитку інших. Також було відмічено важливість поєднання різних субознак для підвищення рівня

продуктивності рослини. Прояв кожної ознаки повинен мати наукове підґрунтя, що є важливим аспектом при створенні моделі сорту. Для процесу моделювання має місце встановлення взаємозв'язку між морфологією рослини та діяльністю певних генів, а саме виділення ознак, які приймають участь у формуванні продуктивності та забезпеченні високих показників якості врожаю через морфологічні ознаки. Тому, перед тим як перейти до розробки моделі сорту, потрібно досконало вивчити ознаки та властивості досліджуваної культури, виділити для подальшої роботи ті генотипи, які максимально адаптовані і продуктивні в конкретних умовах вирощування і на їх основі моделювати нові морфобіотипи [4, 5, 6].

Ґрунтово-кліматичні умови Південного Степу України придатні для вирощування всіх типів гібридів від ФАО 150 до ФАО 700. Тому в межах Херсонської області та інших областей південного регіону й АР Крим на зрошуваних землях є можливість вирощувати гібриди кукурудзи різних груп стиглості [7].

Матеріали і методи

Перед побудовою моделі певного типу гібриду необхідно вивчити параметри мінливості основних господарських, морфометричних, фізіологічних ознак і визначити їх вплив на продуктивність ценозу кукурудзи. Тому, першочерговим завданням було вивчити мінливість основних ознак кукурудзи з подальшим з'ясуванням їх впливу на урожайність зерна різних груп стиглості гібридів кукурудзи в умовах зрошення. Польові та лабораторні дослідження виконувалися протягом 2008–2012 рр. на дослідних полях Ін-

Результати та обговорення

У результаті нашої роботи були визначені параметри мінливості основних господарсько важливих показників гібридів кукурудзи різних груп стиглості в умовах зрошення. Основним показником придатності до умов зрошення є

ституту зрошеного НААН, розташованому в зоні Інгулецької зрошеного масиву. Попередником була соя на зерно. Дослідження проводились згідно загальноприйнятих методик проведення селекційних досліджень з кукурудзою в умовах зрошення [8–10]. Дослідження проводились в контрольному розсаднику, облікова площа 10 м², повторність трикратна. Всього проаналізовано понад 4 тис. гібридів. Генетико-статистичний аналіз даних проводили за методикою П.Ф. Рокицького [11].

урожайність зерна. Як показали дослідження, середня урожайність зерна гібридів збільшувалась від ранньостиглої групи до середньопізньої (табл. 1).

Таблиця 1. Параметри мінливості урожайності зерна гібридів кукурудзи залежно від групи стиглості (2008–2012 рр.)

Група стиглості	Статистичні показники					
	\bar{X} , т/га	$S_{\bar{x}}$, т/га	V_g , %	S_v , %	min, т/га	max, т/га
Ранньостигла, ФАО 150-200	8,27	0,07	13,15	0,61	4,87	12,26
Середньорання, ФАО 200-300	9,11	0,05	15,35	0,44	5,85	15,61
Середньостигла, ФАО 300-400	10,34	0,07	15,52	0,61	5,32	15,15
Середньопізня, ФАО 400-500	11,58	0,13	18,57	1,08	5,23	16,32
Пізньостигла, ФАО 500-600	11,02	0,08	21,36	1,01	6,41	14,60
Усі групи	10,43	0,04	19,63	0,36	4,87	16,32

Пізньостигла група гібридів дещо знизилася середню врожайність порівняно з середньопізньою. За максимальною зафіксованою врожайністю також виділилась група ФАО 400–500 – 16,32 т/га. Це вказує на те, що потенціал продуктивності залежить від тривалості вегетаційного періоду, проте генотипи з періодом вегетації понад 130 діб не можуть реалізувати свої спадкові можливості. Перш за все, таке явище можна пояснити жорсткими кліматичними і погодними умовами Південного Степу, де температура повітря в період цвітіння (третья декада липня) сягає 40⁰С, за низької вологості повітря (нижче 30 %), що призводить до стресових умов під час запилення та формування зерна.

Генотипова мінливість, яка свідчить про можливість добору в певних групах стиглості, була найбільш високою і пізньостиглих гібридів,

що вказує на можливі перспективи селекційної роботи у напрямі підвищення врожайності. Параметри генотипової мінливості збільшувались від скоростиглої групи до пізньостиглої, що є наслідком більшої відселектованості гібридів груп ФАО 150–400 і меншої різноманітності вихідного лінійного матеріалу.

Урожайність зерна понад 15 т/га спостерігалась у груп стиглості: середньоранньої, середньостиглої і середньопізньої. Коефіцієнти генотипової варіації в цих групах сягали достатньо високого рівня, що свідчить про перспективи подальшого добору гібридних комбінацій з високою зерновою продуктивністю.

Сучасна технологія збирання кукурудзи передбачає прямий обмолот комбайнами, тому збиральна вологість зерна має важливе значення в селекційній практиці. Збирання проводилось в

третій декаді вересня, що є найбільш поширеним терміном в південному регіоні. Як свідчать дані табл. 2, середня групова вологість підвищу-

валась від 15 % у ранньостиглої групи – до 20,6 % у пізньої.

Таблиця 2. Параметри мінливості збиральної вологості зерна залежно від групи стиглості (2008–2012 рр.)

Група стиглості	Статистичні показники					
	\bar{X} , %	$S_{\bar{x}}$, %	V_g , %	S_v , %	min, %	max, %
Ранньостигла, ФАО 150-200	15,09	0,35	31,64	1,62	9,00	30,19
Середньорання, ФАО 200-300	16,42	0,23	30,09	0,98	8,60	28,60
Середньостигла, ФАО 300-400	18,61	0,32	27,02	1,22	9,90	34,23
Середньопізня, ФАО 400-500	19,69	0,61	31,37	2,17	11,54	37,61
Пізньостигла, ФАО 500-600	20,63	0,39	28,18	1,33	15,50	38,62
Усі групи	17,70	0,17	32,01	0,67	8,60	38,62

Проте розмах мінливості в кожній групі мав високі значення. Коефіцієнт генотипової варіації сягав 30 %, а мінімальні і максимальні значення в окремих групах стиглості мали відхилення понад 20 %. Навіть у ранньостиглій і середньоранній групі окремі гібриди мали вологість зерна 28–30 %. В той же час, деякі генотипи втрачали вологу до 9–10 %. Необхідно відмітити, що останні роки спостерігається суха і жарка погода у серпні-вересні, що також сприяє швидкій вологовіддачі, проте генотипові особливості гібридів мають переважаюче значення для комплексної оцінки і добору кращих комбінацій. Поєднання високої урожайності низької збиральної вологості є першочерговим параметром моделі оптимального гібриду і є можливості поєднувати ці вимоги проведенням спрямованих доборів.

Розміри качана мають важливе значення у визначенні потенційної врожайності. У розмірах качана основний компонент – це його довжина. За середньогруповою довжиною качана виділялись середньопізня і пізня групи (табл. 3). Проте за розмахом мінливості лідером були пізні гібриди – до 28 см. Коефіцієнт генотипової варіації сягнув середнього значення тільки у пізніх гібридів, що вказує на більшу різноманітність довжини качана у гібридів з ФАО понад 500. Максимальні значення у груп ФАО 150–500 були практично на одному рівні – в межах 23 см, що

вказує на досить обмежені можливості проводити добори у напрямку збільшення лінійних розмірів качана.

Крім розмірів качана, важливе значення у визначенні адаптованості гібридів до агрокліматичних умов є ступінь озерненості качана, яку можна відобразити відношенням довжини озерненої частини качана до загальної. Цей показник може характеризувати частку реалізації генотипових задатків у конкретних умовах середовища.

Встановлено, що найбільш висока реалізація потенційних можливостей спостерігалась у скоростиглих і середньоранніх гібридів 0,95 (табл. 4). Найбільш високий нереалізований потенціал був у гібридів ФАО 400–600. Це пов'язано з високими вимогами генотипів цієї групи до агротехнічних умов і факторів довкілля. Запліднення пізньостиглих гібридів проходить за жорсткої посухи і щонайменше порушення режиму зрошення викликає низьку озерненість качана. На цей показник може впливати і незадовільний рівень живлення рослин, особливо азотними добривами, а гібриди цієї групи стиглості вимагають підвищених норм живлення і збільшення зрошувальних норм. Розмах мінливості ознаки в межах 0,77–0,84 свідчить про можливості покращення ознаки за рахунок доборів та агротехнічних заходів.

Таблиця 3. Параметри мінливості ознаки «довжина качана» гібридів кукурудзи залежно від групи стиглості (2008–2012 рр.)

Група стиглості	Статистичні показники					
	\bar{X} , см	$S_{\bar{x}}$, см	V_g , %	S_v , %	min, см	max, см
Ранньостигла, ФАО 150-200	17,8	0,19	8,83	0,78	9,5	23,2
Середньорання, ФАО 200-300	18,4	0,12	7,92	0,44	13,7	23,0
Середньостигла, ФАО 300-400	18,9	0,17	8,12	0,63	13,8	23,3
Середньопізня, ФАО 400-500	19,6	0,23	6,31	0,79	15,3	23,3
Пізньюстигла, ФАО 500-600	19,5	0,24	10,61	0,88	14,2	28,1
Усі групи	18,8	0,06	9,95	0,21	9,5	28,1

Таблиця 4. Мінливість ознаки «відношення довжини качана озерненої до повної» у гібридів кукурудзи залежно від групи стиглості (2008–2012 рр.)

Група стиглості	Статистичні показники					
	\bar{X}	$S_{\bar{x}}$	V_g , %	S_v , %	min	max
Ранньостигла, ФАО 150-200	0,95	0,003	4,49	0,23	0,77	1,00
Середньорання, ФАО 200-300	0,95	0,002	4,35	0,14	0,82	1,00
Середньостигла, ФАО 300-400	0,93	0,003	4,29	0,19	0,80	1,00
Середньопізня, ФАО 400-500	0,91	0,004	4,52	0,31	0,81	1,00
Пізньюстигла, ФАО 500-600	0,90	0,003	3,40	0,23	0,84	1,00
Усі групи	0,94	0,001	4,53	0,10	0,77	1,00

Висновки

Розробка та уточнення морфобіологічних моделей гібридів кукурудзи різних груп стиглості буде сприяти цілеспрямованому та ефективному створенню нових адаптивних гібридів кукурудзи з потужним врожайним потенціалом та відповідними показниками вологості зерна, адаптованих до умов зрошення Південного Степу України. Встановлені параметри мінливості ос-

новних показників продуктивності свідчать про можливість проведення доборів генотипів з високою урожайністю, низькою збиральною вологістю та адаптивними показниками з відповідним рівнем їх реалізації у гібридних комбінаціях, що дозволить підвищити результативність селекційного процесу.

Література

1. Смирязев А.В., Исачкин А.В., Харрасова Л.А. Моделирование: от биологии до экономики. Учебное пособие. – М. – 2002. – С. 122.
2. Базалій В.В., Коковіхін С.В., Михайленко І.В. Моделивання продукційного процесу рослин кукурудзи в умовах зрошення півдня України з використанням інформаційних технологій // Таврійський науковий вісник. – 2012. – Вип. 80. – С. 14–20
3. Кумаков В.А. Физиологическое обоснование моделей сортов пшеницы. – М.: Колос, 1985. – 270 с.
4. Корчинський А.А. Теоретические аспекты моделирования сортов адаптивной ориентации / А.А. Корчинський, Н.С. Шевчук // Фактори експериментальної еволюції організмів – 2009. – Том 6. – 2003–2009. – С. 13–15.

5. Кумаков В.А. Некоторые проблемы физиологии в связи с селекцией на продуктивность // Физиолого-генетические основы повышения продуктивности зерновых культур. – М.: Колос, 1975. – С. 63–70.
6. Фолтын Й. Модель сорта (идеотип) пшеницы // Международный сельскохозяйственный журнал. – 1980. – №2. – С. 54–57.
7. Писаренко В.А., Кококвіхін С.В., Писаренко П.В., Михаленко І.В. Кореляційно-регресійне моделювання врожайності середньопізніх гібридів кукурудзи в умовах зрошення // Зрошуване землеробство. – 2008. – Вип. 49. – С. 189–194.
8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): 5-е изд., доп. и переработано. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
9. Унифицированные методы селекции кукурузы. – Днепропетровск, 1976. – 59 с.
10. Методические рекомендации по проведению опытов с кукурузой. – Днепропетровск, 1980. – 54 с.
11. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск: «Высшая школа», 1974. – 448 с.

VOZHEGOVA R.A., LAVRINENKO J.O., LASHINA M.V.

Institute of Irrigating Agriculture NAAS

Ukraine, 73483, Kherson, Naddneprianskoe, e-mail: lavrin52@mail.ru

DEVELOPMENT OF MORPHOLOGICAL AND BIOLOGICAL MODELS OF MAIZE HYBRIDS OF DIFFERENT MATURITY GROUPS UNDER IRRIGATION

Aims. Development and clarification of morphological models of hybrids of corn for the of irrigation south of Ukraine. **Methods.** Genetic and statistical analysis of selection numbers of hybrids of corn. **Results.** The article presents data on the development and refinement of morphological models maize hybrids of different maturity groups. The models developed corn hybrids will effectively lead work on a new raw material of corn with desired properties and the appropriate level of implementation of hybrid combinations that enhance the effectiveness of selection process of synthesis of a new generation of hybrid and rapid implementation in agricultural production. **Conclusions.** For the terms of irrigation of south of Ukraine different models of hybrids of corn of the FAO 150–600 groups are developed.

Key words: maize, hybrid model, yield of grain, plant height, irrigation.

ГОРДЕЙ И.С., БЕЛЬКО Н.Б., ГОРДЕЙ И.А.

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: I_Gordej777@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ДУПЛИКАЦИИ ГЕНОМА У РЖИ (SECALE CEREALE L.)

Дупликация генома (полиплоидия) – больше, чем простое удвоение генома. Она включает комплекс молекулярно-генетических процессов, ведущих к геномным перестройкам [1–3]: геномные перегруппировки, обмен между геномами, рекомбинации между хромосомами; дифференциальная элиминация генов дублированного генома; дифференциация гена – приобретение геном новой функции на основе избыточности ДНК, функциональное расхождение генов; перегруппировка последовательностей ДНК, метилирование ДНК; изменение структуры хроматина, активация ретротранспозонов, вызывающих транслокации хромосом; эпигенетическое замолкание генов после дублирования и пространственная реорганизация хромосом в интерфазном ядре, обуславливающее изменение эпигенетического контроля экспрессии генов –

важнейшие факторы полиплоидной эволюции.

Известно, что у полиплоидов в профазе первого деления мейоза, как правило, образуются мультивалентные комплексы хромосом в отличие от бивалентных комплексов у диплоидов. При этом нарушается кроссинговер между гомологичными хромосомами и распределение хромосом по дочерним клеткам. Нарушения конъюгации хромосом в мейозе могут явиться причиной их структурных изменений – дупликации, делеции, транслокации или инверсии отдельных участков хромосом. Показано, что у модельных полиплоидов наблюдаются быстрые потери одних генов и специфическая инактивация других за счет метилирования [4]. В настоящее время не вызывает сомнений влияние пространственной организации хромосом в ядре на регуляторную функцию генов в развитии. Воп-

рос о пространственном положении генетического материала в интерфазном ядре эукариотической клетки в последнее время приобретает особое значение, так как рассматривается в свете эпигенетического контроля экспрессии генов [5].

Эти и другие изменения генетического

Материалы и методы

Материалом исследований служили диплоидные сорта и гибриды (RR, $2x=14$) и созданные на их основе тетраплоидные формы (RRRR, $4x=28$) озимой ржи (*Secale cereale* L.). Тетраплоидные формы ржи получены в лаборатории цитогеномики растений Института генетики и цитологии НАН Беларуси с использованием усовершенствованного метода дубликации генома растений в первом делении зиготы закисью азота (N_2O) [6]. Цитологический анализ числа хромосом, ключевых этапов микроспорогенеза проводили на давленных препаратах апикальных меристем корня и пыльников, окрашенных 2 %-м раствором ацетокармина в 45 %-й уксусной кислоте под микроскопом Leica DMRXA2.

Хромосомный состав ди- и тетраплоидных

Результаты и обсуждение

Принимая во внимание повышенный уровень геномной нестабильности вновь созданных тетраплоидов и его влияние на их общую продуктивность, проведено изучение хромосомного состава тетраплоидных форм и исходных диплоидных сортов озимой ржи. Результаты цитологического анализа тетраплоидных форм ржи показали относительно низкий уровень формирования (до 8,1 %) анеуплоидных растений в популяциях тетраформ, что свидетельствует об эффективности дубликации генома ржи в первом делении зиготы.

Выявленные анеуплоиды были представлены в основном 27-хромосомными гипотетраплоидами. Количество их у разных тетраформ ржи было различным и варьировало в интервале 0–8,1 %. Наибольшее количество 27-хромосомных растений (8,1 %) выщепилось в потомстве тетраплоидной формы ржи Плиса. У тетраплоидной ржи Юбилейная гипотетраплоидные растения отсутствовали.

Формирование гипертетраплоидных растений (28 хромосом + фрагмент хромосомы) отмечено в 3,3 % случаев у тетраплоидных форм Зарница и Плиса.

Из исследованных тетраформ озимой ржи наибольшей стабильностью хромосомного состава характеризовалась тетраформа Юбилейная,

аппарата при дубликации генома вызывают наследственно обусловленные разнообразные проявления ботанико-морфологических, анатомических, молекулярно-генетических, цитологических, физиологических, биохимических и других признаков и свойств растений.

форм анализировали с применением модифицированного C-метода дифференциального окрашивания хромосом ржи (C-бэндинг).

Электрофорез запасных белков семян (секалинов) проводили в полиакриламидном геле в вертикальных пластинах электрофоретической камеры «VE-4М», производства ООО «Биоклон» пометодическим указанием ВИР.

Специфичность геномов диплоидной и тетраплоидной озимой ржи на уровне ДНК устанавливали методом ПЦР с произвольными праймерами (RAPD-анализ). ДНК выделяли с помощью Genomic DNA Purification Kit фирмы Fermentas. В качестве маркера молекулярного веса использовали 100 bpDNA Ladder Plus (Fermentas).

тогда как тетраформа Плиса содержала максимальное количество анеуплоидных растений.

Образование анеуплоидных и клеток иных уровней ploidy у экспериментально полученных тетраплоидов связано с «реверсией ploidy», обусловленной значительными нарушениями в мейозе.

В целом нарушения мейоза, наблюдаемые в материнских клетках микроспор в первом и втором мейотических делениях у тетраплоидных форм и диплоидных сортов, были аналогичными. Однако у тетраплоидов мейоз протекал со значительно большими нарушениями (табл. 1).

Проведенные исследования показали, что у тетраплоидных форм озимой ржи среди хромосомных ассоциаций преобладали биваленты. Помимо бивалентов, со значительной частотой встречались уни-, три- и квадριваленты, число которых на клетку варьирует.

У полученных тетраплоидов в отличие от диплоидной ржи в метафазе I достаточно часто (от 7,9 до 19,2 %) встречались микроспороциты с унивалентными хромосомами. Частота МКП с унивалентными хромосомами у диплоидных форм на стадии метафазы I составила 1,2–3,3 %.

В анафазе I в среднем количество МКП с нарушениями у тетраплоидных форм составило

9,9 %, у диплоидных – 1,8 %. Наиболее типичным нарушением для этой стадии мейоза является образование анафазных мостов.

Во втором мейотическом делении нарушения встречались чаще, чем в первом, и частота их была достоверно ($P < 0,05$) выше у тетраплоидов, в сравнении с соответствующими стадиями мейоза у диплоидной ржи. В среднем в

метафазе II у тетраплоидных форм количество аномальных МКП составило 22,2 %. У диплоидных форм этот показатель на данной стадии составлял 1,5 %. В анафазе II количество МКП с нарушениями у тетраплоидных форм находилось на уровне 19,1 %. У диплоидных форм этот показатель составлял 2,4 %.

Таблица 1. Частота нарушений по стадиям мейоза у тетраплоидных форм и исходных диплоидных сортов ржи, %

Сорта и формы	Метафаза I	Анафаза I	Метафаза II	Анафаза II	Тетрады
Тетраплоидные формы (RRRR, 2n=28)					
Плиса-тетра	10,4	5,8	26,9	24,6	18,3
Юбилейная-тетра	7,9	8,5	13,1	15,0	8,3
Зарница-тетра	11,8	9,0	23,4	23,4	20,7
Алькора-тетра	19,2	16,7	32,8	21,2	13,3
Среднее	11,7*	9,9*	22,2*	19,1*	14,0*
Диплоидные сорта (RR, 2n=14)					
Плиса	3,1	1,7	1,6	2,1	0,9
Юбилейная	2,5	2,2	1,2	2,9	0,5
Зарница	3,3	1,8	1,1	2,5	1,0
Алькора	1,2	1,6	1,9	2,1	0,7
Среднее	2,5	1,8	1,5	2,4	3,1

Примечание. Различия достоверны при $P < 0,05$.

По мнению ряда авторов [7, 8] удвоение хромосом приводит к нарушению тонко сбалансированной системы взаимодействия генов контроля мейоза у диплоидных растений. В настоящее время картировано ряд мейотических мутаций (sy1, sy9, sy10, sy18, sy19), контролирующих отдельные этапы процесса мейоза у озимой ржи.

С целью изучения сбалансированности кариотипов 28-хромосомных растений озимой ржи и выявления возможных хромосомных пе-

рестроек, вызванных дубликацией генома, проведен сравнительный анализ кариотипов созданных тетраплоидов с исходными диплоидными сортами с использованием С-метода дифференциального окрашивания хромосом.

Установлено, что включенные в анализ 28-хромосомные растения являлись геномно сбалансированными тетраплоидами (RRRR, $4x=28$) и не содержали видимых структурных изменений хромосом (рис. 1).

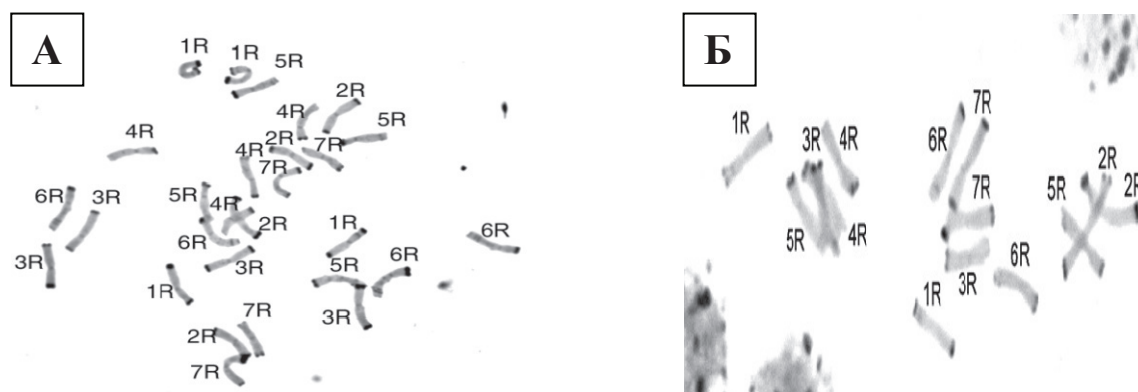


Рис. 1. Кариотипы тетра (А)- и исходной диплоидной (Б) форм озимой ржи Алькора

Для выявления различий в экспрессии генетических систем геномов новых тетраплоидных форм озимой ржи в сравнении с исходными

диплоидными сортами проведен электрофорез запасных белков секалинов семян.

У изученных генотипов ржи идентифици-

ровано 66 типов спектра секалина зерновок, неравномерно распределенных среди диплоидных сортов и тетраплоидных форм: от 7 до 19 в зависимости от сорта и тетраформы, для каждого из которых характерен специфический состав (табл. 2).

Наибольшей изменчивости подвержены компоненты щ-зоны. У ряда генотипов отмечена элиминация компонентов щ 7, щ 11, щ 12, проявление щ1 и щ 6. В в-зоне часто происходит элиминация компонентов в 1, в 2 и в 3.

Сравнение ЭФ-спектров секалина показало,

что у тетраплоидных форм внутрисортной полиморфизм значительно шире и достигает 10–19, у исходных диплоидных сортов – от 7 до 10 типов спектра. В электрофоретическом спектре секалина большинства тетраплоидных генотипов появляются г4 и г5 компоненты, отсутствующие у исходных диплоидных сортов, а компонент г1, присущий исходному диплоидному гибриду, может быть элиминирован у полученного тетраплоида. У ряда тетраплоидов наблюдается появление в ЭФ-спектре компонентов щ1213, не выявленных у исходных диплоидов.

Таблица 2. Состав и интенсивность компонентов секалина у исходных диплоидных сортов и тетраплоидных форм озимой ржи

Диплоидные сорта и тетраплоидные формы	Состав и интенсивность полипептидов секалина		
	В	Г	Щ
Зарница (RRRR, 2n=28)	<u>12345</u>	<u>45</u>	2345 78910111213
Зарница(RR, 2n=14)	<u>2345</u>	<u>5</u>	234 7891011
Юбилейная(RRRR, 2n=28)	<u>12345</u>	<u>1 45</u>	123456789101112
Юбилейная (RR, 2n =14)	<u>2345</u>	<u>5</u>	234 78 1011
Алькора (RRRR, 2n=28)	<u>2345</u>	<u>5</u>	1234 67891011
Алькора(RR, 2n =14)	<u>2345</u>	<u>1</u>	1234 7891011
Плиса (RRRR, 2n=28)	<u>2345</u>		1234 678910111213
Плиса (RR, 2n =14)	<u>2345</u>		234 7891011

Для выявления изменений на уровне ДНК, произошедших в результате дупликации генома, проведен RAPD-анализ ДНК тетраплоидных форм и исходных диплоидных сортов озимой ржи.

С использованием RAPD-метода у исследуемых сортов и форм ди- и тетраплоидной ржи выявлено по 66 фрагментов ДНК соответственно. Число амплифицированных фрагментов ДНК (ампликонов) в суммарной выборке растений варьировало от 6 до 12 в зависимости от праймера, их размер составлял от 300 до 3000 п.н. Из 8 праймеров наиболее эффективными для озимой ржи оказались ОРА 5 и Р 36. На рис. 2 представлен спектр амплифицированных фрагментов ДНК растений ди- и тетраплоидной ржи с использованием праймера ОРА 5.

В изученных ди- и тетраплоидных популяциях выявлено 10 и 11 фрагментов ДНК соот-

ветственно. Электрофоретический анализ амплифицируемых фрагментов ДНК созданных тетраплоидов в сравнении с их исходными диплоидными сортами выявил в спектрах существенные различия в 70 % случаев. У тетраплоидов в 25 % спектрах обнаружено появление 1–3 фрагмента ДНК размером от 300 до 4000 п.н., отсутствующих у исходных диплоидных сортов. RAPD-анализ выявил у тетраплоидов потерю (20 %) или одновременно потерю и появление (30 %) отдельных полиморфных фрагментов ДНК. Чаще элиминировали фрагменты ДНК размером от 700 до 1700 п.н. Полученные результаты свидетельствуют об изменениях генома ржи при дупликации, которые обусловлены структурными изменениями ДНК, дифференциальной элиминацией и диферсификацией генов, перегруппировкой последовательностей, метилированием ДНК и блочными перестройками.

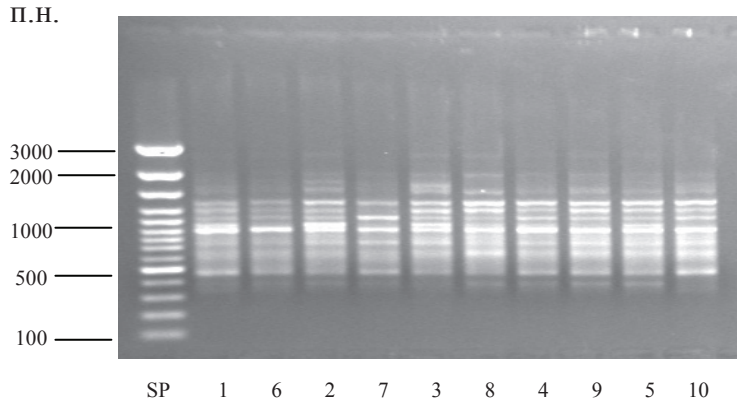


Рис. 2. RAPD-спектр амплифицированных фрагментов ДНК растений ди- (1 – Алькора, 2 – Плиса, 3 – Зарница, 4 – Юбилейная, 5 – Заречанская зеленоукозная) и тетраплоидной (6 – Алькора-тетра, 7 – Плиса тетра, 8 – Зарница-тетра, 9 – Юбилейная-тетра, 10 – Заречанская зеленоукозная-тетра) озимой ржи, полученный с использованием праймера ОРА 5

Примечание. SP – фрагменты ДНК с известным числом пар оснований.

Выводы

1. Индуцированные с использованием закиси азота (N_2O) 28-хромосомные растения озимой ржи являются геномно сбалансированными тетраплоидами (RRRR, $4x=28$) и не содержат видимых структурных изменений хромосом.

2. В ранних поколениях (N_2-N_3) аутотетраплоидов озимой ржи, индуцированных закисью азота (N_2O), выявлена достоверно ($P<0,05$) более высокая частота нарушений мейоза по сравнению с исходными диплоидами, что связано с нарушением тонко сбалансированной у диплоидов генетической системы контроля мейоза.

3. Дупликация генома у ржи может приво-

дить к элиминации отдельных компонентов сепалина, присущих исходным диплоидным сортам и проявлению новых компонентов, не выявленных у исходных сортов, что обусловлено изменениями экспрессии дублированных генов.

4. RAPD-анализ полиморфизма ядерной ДНК у тетраплоидных форм и исходных диплоидных сортов озимой ржи выявил существенные различия в их электрофоретических спектрах, связанные как с появлением, так и элиминацией отдельных фрагментов ДНК, что свидетельствует о структурных изменениях ДНК при дупликации генома ржи

Литература

1. Жуковский П.М. Эволюция культурных растений на основе полиплоидии // Полиплоидия и селекция. – Москва-Ленинград, 1963. – С. 5–10.
2. Adams, K.L., Wendel J.F. Polyploidy and genome evolution in plants // Curr. Opin. PlantBiol. – 2005. – V. 8. – P. 135–141.
3. Wendel, J. Genome evolution in plants // Plant. mol. Boil. – 2000. – P. 225–249.
4. Adams, K.L., Percifield R., Wendel J. Organ-specific silencing of duplicated genes in a new synthesized cotton allotetraploid // Genetics. – 2004. – №168. – P. 2217–2226.
5. Стегний В.Н. Пространственная организация хромосом в ядре. Эпигенетические и эволюционные аспекты // Факторы экспериментальной эволюции организмов: сб. науч. ст. – К.: Логос, 2011. – Т. 10. – С. 73–78.
6. Белько Н.Б., Гордей И.С., Гордей И.А. Методические рекомендации по полиплоидизации (дупликация генома) ржи (*S. cereale* L.) с использованием закиси азота (N_2O) // Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. – Минск: Право и экономика, 2012. – 28 с.
7. Соснихина С.П., Федотова Ю.С., Смирнов В.Г., Михайлова Е.И., Богданов Ю.Ф. Изучение генетического контроля мейоза у ржи // Генетика. – 1994. – Т. 30. – С. 1043–1056.
8. Национальный Интернет-портал РФФИ [Электронный ресурс] / Книги, изданные при поддержке РФФИ – Режим доступа: <http://www.rfbr.ru/old/pub/knigi/janus/golub.htm>. – Дата доступа: 12.03.2010.

GORDEI I.S., BELKO N.B., GORDEI I.A.

*Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus,
Belarus, 220072, Minsk, Akademicheskaya str., 27, e-mail: I_Gordej777@mail.ru*

THE MOLECULAR-GENETIC EFFECTS OF GENOME DUPLICATION IN WINTER RYE (SECALE CEREALE L.)

Aims. Studying of the molecular-genetic effects of genome duplication in winter rye on cellular, protein and DNA levels. **Methods.** Cytologic analysis of the chromosome number, the microsporogenesis, karyotype analysis with use C-banding, electrophoresis of the storage proteins - secalins, PCR-analysis with random primers (RAPD). **Results.** Duplication of the chromosome number in winter rye accompanied by a significant infringements of the microsporogenesis process, changes in the spectrum of amplified DNA fragments and the spectra of species-specific proteins of seeds (secalins). **Conclusions.** Duplication of the genome in rye leads to multiple molecular genetic effects on cellular, protein and DNA levels, due to an infringement of a balanced genetic system of meiosis control in diploid plants, gene expression changes in species-specific seed proteins and structural changes in DNA as a result of duplication.

Key words: winter rye, genome duplication, chromosomes, DNA, aneuploidy, meiosis, polymorphism, electrophoresis, PCR-analysis.

ГОРШКОВА Л.М.¹, БОГДАНОВА А.С.¹, ВИРОВЕЦЬ В.Г.²

¹ Глухівський національний педагогічний університет імені Олександра Довженка
Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул. Києво-Московська, 24, e-mail: kafbiol@mail.ru

² Дослідна станція луб'яних культур Інституту сільського господарства Північного Сходу НААН
Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул. Терещенків, 45, e-mail: ibc@sm.ukrtel.net

УСПАДКУВАННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК ЗАЛОЗИСТИХ ВОЛОСКІВ У ПОТОМСТВІ

Порівняно з фундаментальною інформацією щодо хімії компонентів маріхуани (гашиш) відмічено недостатні наукові повідомлення про залозисту систему, властивості залоз у сучасних сортів конопель.

Особливої уваги заслуговує вивчення успадкування морфологічних ознак залозистих волосків у потомстві, оскільки пізнання природи цих явищ представляє велику наукову і практичну цінність в селекційній роботі на зниження каннабіноїдних сполук.

Перш за все нами встановлено, що залози відрізняються характерною структурою – складаються із голівки, ніжки (стебельця) і без них. Диск багатьох клітин вкритий секреторним про-

дуктом. Мікроскопічний опис та хроматографічний аналіз показали, що на вегетативних та генеративних органах конопель містяться різноманітні типи залозистих і незалозистих епідермальних відростків.

Залозисті волоски на відміну від цистолітових містили терпено-фенольні сполуки, що отримали назву каннабіноїдів, які володіють певною психотоміметичною активністю і включають основну психоактивну сполуку Δ^9 - тетрагідроканнабінол плюс Δ^8 – тетрагідроканнабінол та споріднені з ними сполуки – каннабінол (КБН), каннабідіол (КБН), каннабіхромен (КБХ) та інші[2].

цією метою рослини етикетувалися і нумеровалися.

Мікроскопічний опис морфології залозистих волосків проводили на стереоскопічному мікроскопі МБС-10. для визначення вмісту каннабіноїдних речовин застосовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ). Кількісне визначення каннабіноїдів проводили на газорідному хроматографі типу Hewlett Packard 5830A.

Матеріали і методи

З метою випрішення поставлених питань були використані сорти дводомних і однодомних сортів конопель – Глухівські 10 та ЮСО-29.

У перший рік було закладено два розсадники гібридизації.

У батьківських форм, що використовувались у гібридизації, одночасно відбирали зразки для вивчення вмісту каннабіноїдних сполук та морфологічного опису залозистих волосків. З

Таблиця 1. Схема схрещування

Батьківські форми, які беруть участь у схрещуванні	Вміст каннабіноїдів (бали)			
	КБД	ТГК	КБН	КБДК
Максимум / мінімум				
Глухівські 10 / ЮСО-29	4	10	3	3
	0	0	0	слабі сліди
Мінімум / максимум				
Глухівські 10 / ЮСО-29	0	0	0	4
	4	10	4	5
Максимум / максимум				
Глухівські 10 / ЮСО-29	4	10	4	5
	4	10	4	5
Мінімум / мінімум				
Глухівські 10 / ЮСО-29	0	0	0	4
	0	0	0	слабі сліди

Скляні колонки були заповнені 5 % OV-101 на Chromosorb WAN-DMCS (80–100 меш). Вміст каннабіноїдів у кожному зразку визначався за допомогою інтегратора марки Hewlett

Packard 3380A. Внутрішнім стандартом був метиловий ефір стеаринової кислоти C19H38O2 [1, 2].

Результати та обговорення

Морфологічний аналіз вихідних материнських і баківських форм конопель у F₀ покоління

дозволив встановити тип і групу залозистих волосків, які беруть участь у схрещуванні (табл. 2).

Таблиця 2. Характеристика материнських і батьківських форм за морфологічними ознаками залозистих волосків, розташованих на оцвітинах (кількість рослин у %)

Схема схрещування	Глухівські 10 – материнські особини				ЮСО-29 – батьківські особини			
	Тип і група залозистих волосків							
	Головчато-стебельчасті			Залозисті волоски відсутні	Головчато-стебельчасті			Залозисті волоски відсутні
	«а»	«б»	«в»		«а»	«б»	«в»	
Максимум / мінімум	70,0	–	30,0	–	25,0	–	–	75,0
Мінімум / максимум	44,4	–	55,5	–	83,3	–	–	16,7
Мінімум / мінімум	11,7	–	88,3	–	22,2	–	–	77,8
Максимум / максимум	75,0	–	25,0	–	87,5	–	–	12,5

На дозрілих, добре сформованих оцвітниках відмічали значну кількість волосків залозистого і цистолітового типів. У середньому на один криючий волосок припадає 3–4 волосків залозистого типів. Нами описано декілька типів залоз: головчато-прикріплені, головчато-стебельчасті і цибулиноподібні. На рис. 1 приведена класифікація залозистих волосків.

Мікроскопічний аналіз оцвітчини показав, що на випуклих місцях оцвітин першими з'явилися волоски без ніжок, прикріплені до поверхні – «сидячи», які відрізнялися між собою за розміром голівок.

У середньому розмір голівок складав 0,55–0,70 мм.

Забарвлення залоз варіювало від білого до

жовтого і прозорого (рис. 1). Числені перегляди оцвітин показали, що ми зіткнулися з декількома групами головчато-стебельчастих залоз, які розрізняються між собою за формою, величиною і кольором голівок, а також за висотою і формою ніжок (стебелець), тобто вони не уклались в існуючу класифікацію за С. Hammand, Р. Machlberg [3]. Ми виділили декілька інших груп і дали їм назви – головчато-стебельчасті волоски групи «а» і «в». Група «а» – головчато-стебельчасті залозисті волоски цієї групи мали

довгі ніжки з маленькими голівками, які в окремих випадках ледве виступали над ніжками.

Розмір голівок у діаметрі складав 0,3–0,4 мм, довжини ніжок – 1,5–2,5 мм. На достиглій оцвітині вони були світло-жовтого або коричневого кольору (рис. 1).

Група «в» – головчато-стебельчасті залозисті волоски мали крупні кулясті голівки білого кольору 0,5–0,7 мм. Ніжки світло-коричневого кольору середньої висоти – 1,5–1,6 мм (рис. 1).

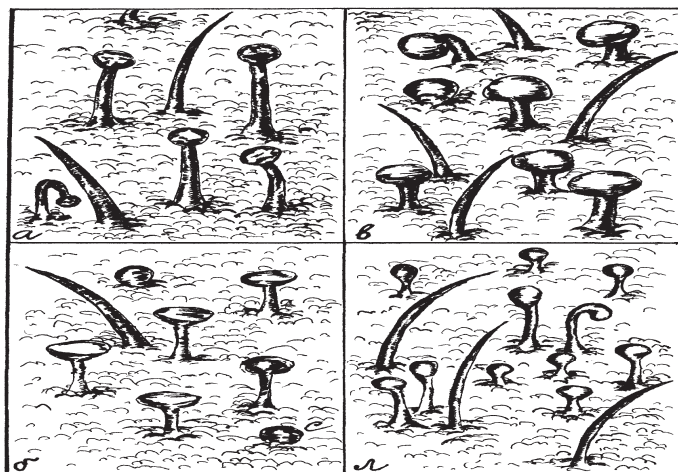


Рис.1. Класифікація залозистих волосків рослин конопель: «а», «б», «в» – головчато-стебельчасті, «с» – головчато-прикріплені, «л» – цибулиноподібні

Цибулеподібні залозисті волоски, які описані С. Hammand, Р. Machlberg [3] були найдрібнішими у порівнянні з вищеописаними. Діаметр голівок складав 0,1–0,2 мм, висота ніжок 0,15–0,20 мм. Голівки частіше за все мали коричневий колір, ніжки були зеленого або жовто-зеленого кольору, цибулеподібні залози завжди розташовувалися між іншими волосками. Самостійно не покривали оцвітину і дрібне листя суцвіття (рис. 1).

Аналіз одиничних рослин показав, що у основної маси рослин оцвітина покривалася головчато-стебельчастими волосками всіх перерахованих груп. Цибулеподібні залозисті волоски зустрічалися досить рідко.

Описані залози, що відрізнялися за морфологічними ознаками були дійсно пов'язані з вмістом каннабіноїдних речовин і особливо з вмістом ТГК (табл. 3).

Таблиця 3. Залежність між морфологічними ознаками залозистих волосків і вмістом каннабіноїдних речовин (оцвітини) ГРХ

Номер сім'ї	Номер рослини	Кількість головчато-стебельчастих волосків на 1 мм ² , штук		Склад каннабіноїдів (%)		
		Група «в»	Група «а»	КБД	ТГК	КБН
ЮСО-29						
348	150	нема	нема	0,0	0,0	0,0
356	431	нема	нема	0,0	0,0	0,0
356	435	нема	нема	0,0	0,0	0,0
346	133	нема	нема	0,0	0,0	0,0
346	131	0	0,88	1,699	1,820	1,296
389	1386	0	0,80	0,703	1,716	1,402

Характеристика материнських і батьківських форм у F₀ поколінні дозволив встановити тип і групу залозистих волосків, які беруть участь у схрещуванні (табл. 1).

Аналізуючи отримане потомство першого покоління за усіма схемами ми встановили, що у гібридів проявлялась тільки одна альтернативна ознака із визначених пар – залози групи «а» і «в» пригнічували ознаку «відсутність залозистих волосків». У комбінації схрещування «головчато-стебельчасті залозисті волоски групи «в» \ головчато-стебельчасті волоски групи «а»»

отримана морфологічно нова ознака – залозисті волоски нової форми, і вони названі як головчато-стебельчасті залозисті волоски групи «б». У першому поколінні вони розташовувалися на оцвітинах окремих рослин. Волоски віднесені до нової групи – головчато-стебельчастого типу групи «б». Раніше не описані у батьківських формах.

Гібридологічний аналіз потомства другого покоління вирощеного в ізольованому розсаднику, дозволив встановити закономірності його розщеплення за класами.

Таблиця 4. Кількість залозистих волосків на оцвітинах гібридного потомства

Тип та група залозистих волосків	Кількість залозистих волосків на 1 мм ² (Глухівські 10 / ЮСО-29)							
	F ₁				F ₂			
	\bar{X}	α	$M\bar{X}$	V, %	\bar{X}	α	$M\bar{X}$	V, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Мінімум / максимум								
Головчато-стебельчасті								
група «а»	0,63	0,31	0,08	49,7	0,42	0,08	0,02	20,6
група «б»	0,56	0,11	0,06	20,4	0,33	0,04	0,02	14,2
група «в»	0,73	0,47	0,27	64,4	0,56	0,26	0,10	46,9
Головчато-прикріплені	–	–	–	–	0,14	0,06	0,01	43,2
Максимум / мінімум								
Головчато-стебельчасті								
група «а»	0,90	0,33	0,09	43,3	0,51	0,27	0,07	53,5
група «б»	0,50	0,14	0,02	8,3	1,00	0,00	0,00	0,00
група «в»	0,97	0,42	0,11	43,8	0,56	0,30	0,17	53,9
Головчато-прикріплені	–	–	–	–	0,17	0,58	0,14	48,7
Мінімум / мінімум								
Головчато-стебельчасті								
група «а»	–	–	–	–	0,60	0,28	0,20	47,1
група «б»	–	–	–	–	1,05	0,07	0,04	6,7
група «в»	0,78	0,24	0,09	30,7	0,65	0,07	0,04	10,9
Головчато-прикріплені	0,23	0,10	0,04	44,3	0,16	0,08	0,04	53,9
Максимум / максимум								
Головчато-стебельчасті								
група «а»	0,63	0,22	0,02	35,1	0,63	0,17	0,04	26,9
група «б»	0,64	0,24	0,04	37,8	0,70	0,20	0,09	28,6
група «в»	0,56	0,07	0,03	13,3	–	–	–	–
Головчато-прикріплені	0,34	0,15	0,02	44,6	0,15	0,07	0,01	49,8

Як свідчать результати аналізу, що у чотирьох комбінаціях схрещування спостерігається домінування однієї з ознак. Головчато-стебельчасті залозисті волоски груп «а», «б» і

«в» домінували над їх відсутністю.

Визначивши фактично отримане потомство за формою залозистих волосків, ми вважаємо, що досліджувана ознака – форма залоз домінан-

тна, відсутність – рецесивна, тому головчато-стебельчаті залозисті волоски групи «а» позначили як S, головчато-стебельчасті залозисті волоски групи «в» – V, головчато-стебельчасті волоски залозисті групи «б» – B, «відсутність залоз» – рецесивна ознака, як s.

У схемі схрещування – (максимум / мінімум) материнські особини типу – SS гомозиготні по домінантному гену S, схрещувались з батьком типу ss гомозиготному по рецесивній ознаці s. У F₂ поколінні їх генотип був представлений як 1S:2Ss:1ss і фенотип 3S:1s, тобто оцвітини трьох рослин були вкриті головчато-стебельчастими залозистими волосками групи «а», в однієї рослини залозисті волоски були відсутні. Відповідно до схеми схрещування частково жіночі особини з залозами групи «а» могли запилюватися батьківськими формами гомозиготними по домінантному гену S, також регулюючі залозисті волоски групи «а». У поколінні їх генотип і фенотип не відрізнялися – 4SS і 4S. Оцвітини цього потомства були вкриті головчато-стебельчастими залозистими волосками групи «а».

Материнські особини типу VV гомозиготні за домінантним геном V схрещувалися з батьківськими особинами типу ss гомозиготними за рецесивним геном s. Їх генотип був представлений як 1VV:2Vs:1ss, фенотип – 3V:1s. У другому поколінні виявлене розщеплення за фенотипом 3:1, як і у вище описаному варіанті схрещування. У трьох рослин оцвітини були покриті головчато-стебельчастими залозистими волосками групи «в», і на одній рослині вони були відсутні.

Деяка частина особин типу VV гомозиготних по домінантному гену V схрещувалися з батьківськими особинами типу SS гомозиготними за домінантним геном S. Їх генотип був представлений як 1VV:2VS:1SS. Розщеплення у другому поколінні за фенотипом було представлено 1V:2VS:1S, тобто на одній рослині оцвітини були покриті залозистими волосками групи «в», на двох інших залозами названими нами групи «б» і на одному залозами групи «а». Залозисті волоски не відрізнялись, як за генотипом, так і за фенотипом. Результати мікроскопічного аналізу показали, що залозисті волоски груп «а» і «в», практично на одній оцвітині однієї рослини не розташовувались. Разом на одній оцвітині розташовувалися залозисті волоски груп «а» і «б». Залозисті волоски групи «б» за зовнішніми, морфологічними ознаками мали деяку подібність з волосками групи «в», але за забарвлен-

ням голівок і ніжок (стеблинки) були однакові з залозами групи «а». Тобто, ми вважали, що була отримана нова група залоз, що розташовувалася на одній оцвітині з групами залоз «а» і в онтогенезі розвитку обумовлювалася двома домінантними генами V і S. У цьому варіанті схрещування взаємодія двох домінантних генів приводила до прояви нової ознаки – форми залоз. Кожен домінантний ген окремо не викликав розвиток нової ознаки, тільки спільна дія сприяла цьому. Ефект їх спільної дії виявлявся у виникненні нової ознаки. У представленому варіанті спостерігалася комплементарна дія генів, два домінантних гени, як би доповнювали один одного.

Виходячи з вищевикладених закономірностей з урахуванням того, що у схрещуванні брали участь материнські і батьківські особини в співвідношенні 1:1, теоретично обчислене загальне потомство від чотирьох комбінацій схрещування в кожній схемі представляло співвідношення за генотипом, як 6SS:2Ss:2VV:2Vs:2ss:2SV і фенотипом 8S:4V:2SV:2s. Раніше відзначали, що в кожній схемі кількість батьківських особин, які брали участь у схрещуванні відрізнялись за формою залозистих волосків, або їх відсутність була різною, тому фактично отримане співвідношення за класами у кожній схемі також було різне.

У схемі схрещування – (максимум / мінімум) теоретично обчислене співвідношення потомства за класами отриманого від чотирьох комбінацій складало 5,6S:1,2V:0,65SV:1ss. Фактичне співвідношення встановлене шляхом мікроскопічного аналізу і підрахунку потомства за групами складало 5S:1V:1SV:0s. У схемі схрещування – (мінімум-кислоти / максимум) теоретично обчислене співвідношення за фенотипом складало 3,65S:2,2V:1,1SV:1,3s, фактичне 3,25S:1,85VV:1Vs:0s. У схемі схрещування (мінімум-кислоти x мінімум) обчислене співвідношення за фенотипом складало 0,93S:3,5V:1,75SV:1,55s, фактичне 1,0S:4V:2SV:1,5s. В останній схемі (максимум x максимум) отримані теоретичні результати були представлені як 1S:3V:2SV:1,5s і фактичні 1,9S:2V:2SV:1s.

Отримані результати давали підставу стверджувати, що під час аналізу застосовувався правильний метод. Відсутність у деяких схемах схрещування рослин, на оцвітинах яких залозисті волоски були відсутні, можливо, було пов'язано з вибірковістю запліднення, або з меншою їх життєздатністю.

Висновки

1. Морфологічного аналіз потомства значених вище батьківських пар показав, що гібриди першого покоління були однотипними.

2. У гібридів другого покоління виявлено розщеплення потомства за фенотипом. Головчато-стебельчаті залозисті волоски груп «а», «б» і «в» домінували над їх відсутністю. Лише у схемі схрещування «мінімум / мінімум» визначена група рослин на яких залозисті волоски

були відсутні.

3. Отримана нова група залоз – головчато-стебельчаті волоски групи «б». Вважаємо, що при взаємодії двох домінантних генів проявлялася нова морфологічна ознака – форма залоз. У представленому вище варіанті схрещуванні виявлена комплементарна дія двох домінантних генів.

Література

1. Горшкова Л.М., Сенченко Г.І., Вировець В.Г. Способ оценки растений конопли по содержанию каннабиноидных соединений. – Авторське свідоцтво ССРСР / Л.М. Горшкова. 15.11.1987. №138687
2. Горшкова Л. М. Каннабін. – Глухів: РВВ ГДПУ, 2008. – Ч. II. – 151 с.
3. Hammond G.T. and Mahlbery P.G. Morphology of Clangular Nairs of Cannabis sativa from scanning electron microscopy / G.T. Hammond American Journal of Botany. – 1973. – Vol. 60, №6. – P. 524–528.

HORSHKOVA L.M.¹, BOHDANOVA A.S.¹, VYROVETS V.H.²

¹Hlukhiv National Pedagogical University named by Oleksandr Dovzhenko

Ukraine, 41400, Sumy region, Hlukhiv, Kyiv-Moscow Street, 24, e-mail: kafbiol@mail.ru

²Research Station of Bast Crops of the Institute of Agriculture of Northern-East NAAS Ukraine, 41400, Sumy region, Hlukhiv, Tereschenkiv Street, 45, e-mail: ibc@sm.ukrtel.net

INHERITING THE GLAND HAIRS MORPHOLOGICAL FEATURES BY THE POSTERITY

Aims. The article deals with the research of inheriting the morphological features of gland hairs by the posterity. The connection between the existence of the gland hairs and the concentration of cannabinoids in the hemp plants was investigated. The selective work was aimed at lowering the cannabinoids content in the hemp plants by means of selecting the plants with less gland hairs as they are mainly the bearers of the substance. **Methods.** During the investigation the stereoscopic microscope was the main device and the method of the thin layer chromatography was used. The cannabinoids quantity was defined by the gas and liquid chromatograph of the type Hewlett Packard 3380 A. The inner standard of the experiment was methyl ether of the stearin acid C₁₉H₃₈O₂. **Results.** The second generation hybrids demonstrated splitting by the phenotype. The hybridological analysis proved dominating the gland hairs over their absence. **Conclusions.** Besides the interaction of two dominant genes was shown as the new morphological feature - the gland form which was the proof of the genes complementary result.

Key words: lowering the cannabinoids content, gland hairs, inheriting, morphological features, thin layer chromatography method.

ДРАГУЛЯН М.В.¹, КОСТЕНКО С.О.², СИДОРЕНКО О.В.³

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Україна, 03143, Київ, вул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: parus_major@ukr.net

²Національний університет біоресурсів та природокористування України

Україна, 03041, Київ, вул. Героїв Оборони, 15, e-mail: swetakostenko@mail.ru

³Інститут розведення та генетики тварин НААН України

Україна, 08321, Київська обл., с. Чубинське, вул. Погребняка, 1

ЗВ'ЯЗОК СТАБІЛЬНОСТІ ГЕНОМУ З РІЗНИМИ ГЕНОТИПАМИ ГЕНІВ ВІДТВОРЕННЯ СВИНОМАТОК

Відомо, що естрагоновий гормон (ES) разом із гормоном пролактином (PRL) та фолікулостимулюючим гормоном (FSH) приймають

участь у стимуляції скорочення яйцепроводів під час запліднення, регулюють ріст та розвиток яєчників, дозрівання овоцитів, морфологічну та

функціональну зрілість матки, приживлюваність ембріонів, посилення розвитку та лактації молочної залози, стимуляцію біосинтезу білків, жирів та глікогену [4]. Синтез гормонів та реалізація їх фізіологічних ефектів являє собою ланцюг реакцій білок-рецептор. Провідними ланками ланцюга є гіпофізарний фактор транскрипції гормону пролактину та фолікулостимулюючого гормону, що передає сигнал до клітин-мішеней [1], які мають мембранні чи ядерні рецептори вищезгаданих гормонів, та запускають внутрішньоклітинну відповідь [4].

Матеріали і методи

Експериментальне дослідження виконувались у відділі генетики Інституту розведення і генетики тварин НААН України та на кафедрі Генетики, розведення та репродуктивної біотехнології тварин імені М.А. Кравченка НУБіП України.

Досліджували біологічний матеріал плем'яного поголів'я свиноматок української м'ясної (n=73) та уельської (n=123) порід, що відтворюються в ДП ДГ «Гонтарівка» Вовчанського району, Харківської обл. Геномну ДНК виділяли із волосяних фолікулів за допомогою реактивів «ДНК-сорб В» за рекомендаціями виробника. Дослідження поліморфізму генів *ESR*, *NCOA1*, *PRLR*, проводили методом ПЛР – ПДРФ. Поліморфізм гену *FSHR* проводили методом Ві-Passa (без рестрикції). Оптимізовані

Результати та обговорення

У результаті молекулярно-генетичного тестування свиноматок української м'ясної та уельської порід було виявлено поліморфізм генів *ESR*, *NCOA1*, *PRLR*, *FSHR* (табл. 1).

При вивченні асоціацій поліморфізму генів рецепторів гормонів відтворної здатності з

Асоціація та взаємодія генів рецепторів гормонів відтворної здатності: рецептору естрогену (*ESR*), коактиватору ядерних рецепторів стероїдних гормонів (*NCOA1*), рецептору пролактину (*PRLR*), рецептору фолікулостимулюючого гормону (*FSHR*) на молекулярному, геномному та клітинному рівні свиноматок як на Україні так й інших країнах досі не вивчено. Із цього й витикає актуальність даного дослідження для виявлення та вивчення взаємодії різних генотипів асоціації генів із геномом тварини.

параметри проведення рестрикційних ділянок генів *ESR*, *NCOA1*, *PRLR* з використанням ендонуклеаз – PvuII, RsaI, AluI. Візуалізацію довжин рестрикційних фрагментів здійснювали методом електрофорезу в 2 % агарозному гелі.

Приготування цитогенетичних препаратів виконувався за методиками, розробленими в Інституті тваринництва Української академії аграрних наук (УААН) м. Харкова [3]. У препаратах враховували рівень клітин з мікроядрами (МЯ), двоядерними (ДЯ) і апоптозними (АП) клітинами, а також мітотичний індекс (МІ). Підрахунок здійснювався на 1000 клітин. У кожній тварині аналізували 3000 клітин.

Статистичну обробку даних проводили за стандартними методиками з використанням Excel 2003.

багатоплідністю свиноматок виявлена закономірність позитивного впливу алелів *ESR^B*, *NCOA1^{A1}*, *PRLR^A*, *FSHR^C* (рис.). Отримані нами результати співпадають із результатами зарубіжних авторів на свиноматках м'ясного напрямку продуктивності [1, 4].

Таблиця 1. Розповсюдження відносних частот алелей досліджених генів в популяції української м'ясної та уельської порід

Ген	Алель	Українська м'ясна порода	Уельська порода	p
<i>ESR</i>	<i>B</i>	0,48±0,028	0,40±0,021	0,001
	<i>A</i>	0,52±0,027	0,60±0,026	
<i>NCOA1</i>	<i>A1</i>	0,62±0,020	0,66±0,020	0,001
	<i>A2</i>	0,38±0,030	0,34±0,027	
<i>PRLR</i>	<i>A</i>	0,58±0,019	0,53±0,016	0,001
	<i>B</i>	0,42±0,022	0,47±0,017	
<i>FSHR</i>	<i>C</i>	0,73±0,018	0,75±0,015	–
	<i>T^L</i>	0,27±0,030	0,25±0,026	

Треба зазначити, що групи тварин із різними генотипами різняться між собою за конкретною ознакою (багатоплідність свиноматки та збереженість потомства). Асоціацію генів вивчали шляхом порівняння прояву ознаки у тварин із обраним генотипом до загальної вибірки тварин. Генотип, який відрізняється від вибірки статистично достовірно, приймався, як асоціативний з дослідженою ознакою.

На фоні посилюючої дії комбінації двох генів на багатоплідність свиноматок при першому опоросі відмічалась як загальна тенденція впливу комбінації за генами $ESR^{BB}/FSHR^{CC}$ для

двох порід, так і породоспецифічна для української м'ясної породи схильність впливу комбінації за генами $ESR^{AB}/PRLR^{AB}$.

Щодо дії комбінації із трьох генів, то для двох порід виявилась найкращим поєднання генотипів $NCOAI^{A1A1}/ESR^{BB}/FSHR^{CC}$. Свиноматки $NCOAI^{A1A1}/ESR^{BB}/FSHR^{CC}/PRLR^{AA}$ народжують при першому опоросі більше поросят, ніж тварини $NCOAI^{A2A2}/ESR^{AA}/FSHR^{TT}/PRLR^{BB}$ на 4,4 гол у свиней уельської породи та на 2,0 у тварин української м'ясної породи. Це більше, ніж один ізольований ген, але менше ніж асоціація двох чи трьох генів відтворення.

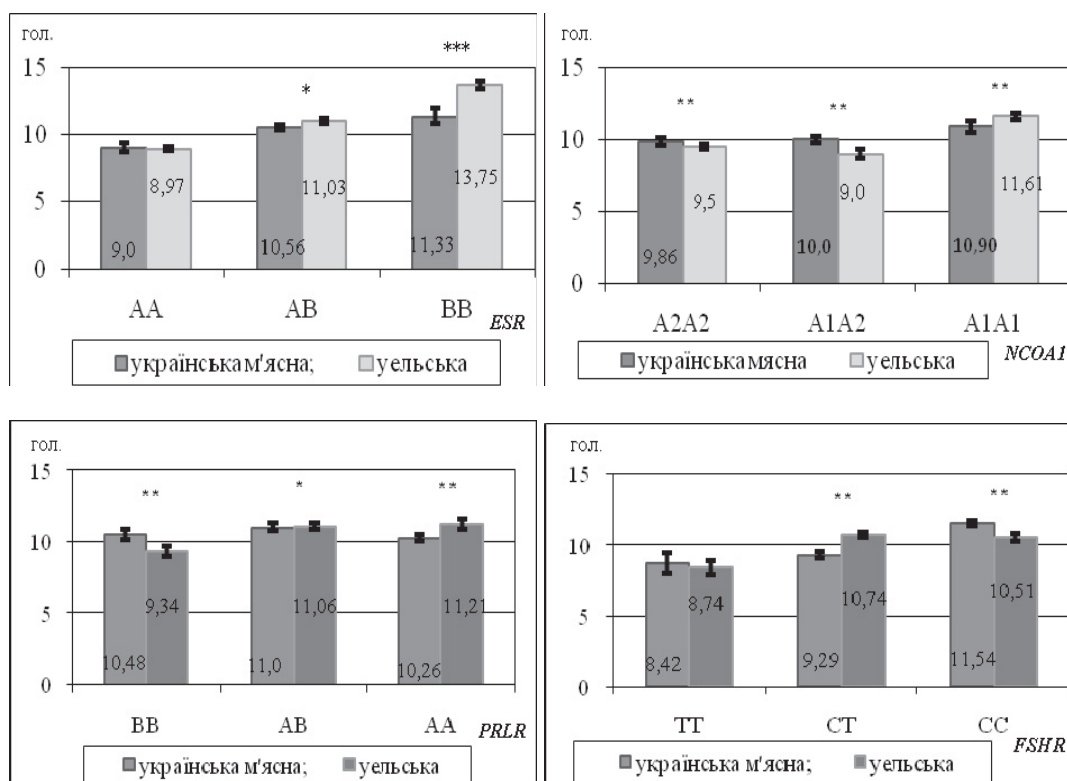


Рис. Багатоплідність української м'ясної та уельської порід в залежності від генотипу за дослідженими генами відтворної здатності свиноматок

Нами проведено цитогенетичне дослідження. Було встановлено, що свиноматки уельської породи порівнянно із свиноматками української м'ясної породи характеризуються вищими значеннями лімфоцитів з мікроядрами та МІ на 0,67 % та 1,9 % відповідно. В свою чергу за кількістю апоптозів свиноматки української м'ясної породи характеризуються вищими значеннями (на 0,9 %). При порівнянні частот показників лімфоцитів з мікроядрами, апоптичних клітин та мітотичного індексу були виявлені статистично достовірні відмінності ($p < 0,01$). Кількісний показник двоядерних клітин у двох породах був майже на однаковому

рівні (табл. 2).

Сильний зворотній зв'язок кількість клітин з МЯ мають із кількістю народжених поросят у свиноматок обох порід. Відзначений кореляційний зв'язок між відсотком аварійних опоросів та рівнем лімфоцитів з мікроядрами: $r = 0,57$ ($p < 0,01$) в уельської та $r = 0,35$ ($p < 0,01$) в української м'ясної порід. Тобто можна сказати, що у дослідних тварин частота клітин з мікроядрами впливає на багатоплідність та відсоток аварійних опоросів. Отриманні дані щодо зв'язку багатоплідності та частотою генетичних мутацій, які негативно корелюють з показниками продуктивності узгоджуються з даними Сфіменко Л.Й. [5].

Таблиця 2. Цитогенетичні параметри свиноматок української м'ясної та уельської порід

Порода	МЯ, %	ДЯ, %	АП, %	МІ, %
Українська м'ясна	3,64±0,28**	2,33±0,26	4,26±0,38**	4,09±0,33**
Уельська	4,58±0,21	2,60±0,21	3,11±0,26	5,56±0,32

Примітка. ** $p < 0,01$ у порівнянні із свиноматками уельської породи.

На наступному етапі дослідження за побудови маркерних профілей свиней, в яких відображені генотипи тварин за цитогенетичними та ДНК-маркерами, було встановлено зв'язок стабільності геному із різними генотипами генів відтворної здатності свиноматок.

У тварин-носіїв всіх 4 бажаних алелей

обох порід навіть при високому рівні клітин із мікроядрами зберігається висока багатоплідність та відсоток збереженості потомства. Свиноматки обох порід, які не мали бажаного алелю із збільшенням рівня клітин крові з МЯ – зменшується відсоток збереженості та багатоплідність свиноматок (табл. 3).

Таблиця 3. Зв'язок частоти клітин з мікроядрами із багатоплідністю та збереженістю потомства у тварин різних генотипів досліджених генів

Ідентифікаційний номер	Родина	Показник МЯ	Багатоплідність	Збереженість
Тварини бажаних гомозиготних та гетерозиготних генотипів				
5144	Лайк Герл	7	11	89,00
342	Лайк Герл	6,7	10	90,00
700	Цапля	6,2	12,5	88,00
Тварини гомозиготних небажаних генотипів				
1090	Лайк Герл	5,8	5	0,00
28	Цензура	5,9	5	10,00
230	Цапля	7,6	8	77,7

Відомо, що пролактин та естрогени в відносно високих концентраціях стимулюють лімфоцити, які у свою чергу починають вироблять цитокіни прозапального спектру дії, що регулюють апоптоз клітин, імунітет тварини [2]. Наші дані, що представлені в даному дослідженні,

свідчать на користь того, генотипи тварин, які асоційовані з високими показниками багатоплідності свиноматок, обумовлені високою антиоксидантною активністю організмів, що відповідає за стабільність геному.

Висновки

Встановлена закономірність позитивного впливу алелів *ESR^B*, *NCOA1^{A1}*, *PRLR^A*, *FSHR^C*. Виявлена достовірна кореляція між показниками продуктивності та рівнем мікроядер тварин свідчить про те, що тварин слід відбирати не тільки

на основі ДНК-маркерів, але слід ще враховувати стабільність геному свиней. Більш стабільний геном спостерігався у тварин з бажаними та проміжними генотипами по генам *ESR/NCOA1/PRLR/FSHR*.

Література

1. Адаменко В.А. Роль комплекса полиморфных маркеров в характеристике генетического потенциала свиней: Автореф. дис. канд. биол. наук: спец. 03.02.21. – биотехнология / Адаменко Владимир Аркадьевич. – М., 2005. – 24 с.
2. Анацкая О.В., Виноградов А.Е. Полиплоидия мышечных клеток сердца // Цитология. – 2004. – Т. 46, №2. – С. 105–113.
3. Возможности использования цитогенетических методов в селекции свиней при раннем выборе родоначальников заводских линий / Хватов А.И., Россоха В.И., Ефименко М.Н., Россоха Л.В. // Тези допов. Міжнар. конф. «Шляхи підвищення виробництва та поліпшення якості свинини». – Харків: ІТ УААН, 1995. – С. 17.
4. Елишко О.А. Гены, детерминирующие воспроизводительную функцию свиноматок // Весці нацыянальнай акадэміі НАВук Беларусі. – 2008. – №2. – С. 81–85.
5. Ефименко Л.И. Влияние хромосомной нестабильности в лейкоцитах крови на воспроизводительные качества свиней: дис. канд. биол. наук: спец 06.02.01. – Диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и морфология животных / Ефименко Людмила Иосифовна. – Укр. акад. аграр. Наук: Ин-т животноводства. – Х., 1992. – 113 с.

DRAHULYAN M.V.¹, KOSTENKO S.O.², SYDORENKO O.V.³

¹ *Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine*

Ukraine, 03143, Kyiv, Akad. Zabolotnoho, 150, e-mail: parus_major@ukr.net

² *Natsionalnyy University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*

Ukraine, 03041, Kyiv, Heroes of Defense str., 15, e-mail: swetakostenko@mail.ru

³ *Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS of Ukraine*

Ukraine, 08321, Kyiv region, v. Chubinskoe, Pogrebnyak str., 1

RELATIONSHIP WITH STABILITY GENOME OF DIFFERENT GENOTYPES GENES PLAY SOWS

Aim. The aim of this study was to investigate the association of genotypes communication complex genes reproductive capacity of sows genome and identify the most promising in terms of increasing bahatoplidnosti studied animal populations combination. **Methods.** Studies were conducted by using standard molecular genetic and cytogenetic methods. In cytogenetic preparations take into account the level of cells with micronuclei (MN), dual (AH) and apoptotic (AP) cells, and mitotic index (MI). The study of gene polymorphism *ESR*, *NCOAI*, *PRLR*, was performed by PCR–RFLP. *FSHR* gene polymorphism was performed method Bi-Passa (without restriction). **Results.** Detected frequencies of alleles and genotypes of genes *FSHR*, *NCOAI*, *ESR*, *PRLR* and the animals Ukrainian meat and Welsh breeds. Advantage of sows Ukrainian meat and Welsh breeds certain genotypes over their counterparts. A cytogenetic testing sows and found that the frequency of cells with micronuclei affects the twins and the percentage of emergency farrowing. In studying the stability of the genome due to different genotypes of genes reproductive capacity of sows was found that both sows carrier all 4 desired alleles of both species even at high levels of cells with micronuclei is a high percentage of twins and preservation of offspring. **Conclusions.** Pattern revealed positive effects of alleles *ESR^B*, *NCOAI^{A1}*, *PRLR^A*, *FSHR^C*. The authentic correlation between productivity performance and the level of micronuclei animals suggests that animals should be selected not only based on DNA markers, but you should still take into account the stability of the genome of pigs. More stable gene was observed in animals with desirable and intermediate genotypes to genes *ESR/NCOAI/PRLR/FSHR*.

Key words: gene receptor gene, lymphocyte, sow, multiple.

ЄМЕЦЬ З.В., МАМЕНКО О.М., ХРУЦЬКИЙ С.С.

Харківська державна зооветеринарна академія, Мінагрополітики України

Україна, 62341, Харків, смт. Мала Данилівка, e-mail: zoya_emez@mail.ru

ЗМІНИ БІЛКОВОМОЛОЧНОСТІ КОРІВ ПІД ВПЛИВОМ НЕГАТИВНИХ ФАКТОРІВ БІОГЕОХІМІЧНОЇ ПРОВІНЦІЇ

Інтенсифікація виробництва та спустошливе використання природних ресурсів, викиди та скиди екологічно небезпечних відходів виробництва, порушення екологічного балансу негативно впливають на кількість продукції і, особливо, на її якість. Екологічні проблеми виникають з причини нераціональної взаємодії навколишнього середовища і людини та її господарської діяльності, що посилює антропогенне і техногенне навантаження на довкілля. Тим самим перевищуються екологічні можливості території, обумовлені природно-ресурсним потенціалом.

Величезної шкоди завдають важкі метали, потрапляючи в організм тварин та людини вони накопичуються в різних органах та тканинах, переважно в печінці та нирках і володіють інте-

нсивною конкурентною взаємодією з іншими двовалентними металами в структурі ферментів. Ртуть, свинець, кадмій, цинк, мідь виступають у ролі інгібіторів систем метаболізму, вони здатні блокувати участь останніх у формуванні адаптивних перебудов тих чи інших клітин [2].

Зміни в структурі і проникливості біомембран за умов токсичного впливу важких металів також можуть бути однією із основних причин виникнення дисбалансу різних ферментних систем у клітині, що, як правило, призводить до зміни гомеостазу організму, та в цілому генетичного потенціалу. При згодовуванні забруднених кормів тваринам молоко може не відповідати стандартам при закупівлі навіть з деякими консервативними показниками що генетично обумовлені (жир, білок).

Мета роботи. Дослідити негативний вплив біогеохімічної провінції центрального Донбасу щодо надходження та вмісту важких металів в молоці корів під надмірним екоцидним наван-

таженням, а також визначити рівень зниження вмісту білка, як генетично обумовленого показника якості молока корів.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень послужили корови червоної-степової породи із ТОВ «Арготіс» (Мар'їнського району, Донецької області). Порівняльний період склав – 42 доби, дослідний - 92 доби. За принципом пар-аналогів було сформовано три групи корів з урахуванням живої маси, продуктивності і лактації (по 12 голів в кожній). Всі три групи знаходилися на основному раціоні, тільки в II дослідній групі застосовували мінеральну кормову добавку, а III – комплексну

мінеральну кормову добавку і біологічно активний фітобіопрепарат.

Систематично відбирали проби молока протягом дослідного періоду, також проведено лабораторні, фізико-хімічні аналізи дослідного матеріалу за допомогою методу атомно-абсорбційної спектрофотометрії ААС-30 (Карл Цейс, Йена), провели – біометричну обробку отриманих результатів.

Результати та обговорення

Виявлено зниження селекційної ознаки (білковомолочності), котра мала динаміку зменшення вмісту білка протягом дослідного періоду, що обумовлено антропогенним навантаженням в зоні біогеохімічної аномалії. При проведенні досліду було встановлено від'ємну кореляційну залежність між вмістом ксенобіотиків в раціоні та рівнем білку в молоці корів протягом дослідного періоду. Хоча білковомолочність це консервативний і стабільний для породи селекційний показник, та під впливом антропогенного забруднення він істотно змінювався. В

наших дослідженнях зафіксовано зниження вмісту білку в молоці корів контрольної групи під впливом інтоксикації важкими металами на 0,7 абсолютних відсотка в порівнянні з II дослідною і на 0,87 абсолютних відсотка в порівнянні з III дослідною групами.

Зміна основних фізико-хімічних показників в дослідний період досліджень (табл.), свідчить, що відновити рівень білковомолочності можливо за рахунок преміксу, але більш ефективнішим є застосування сумісно з преміксом спеціального фітобіопрепарату.

Таблиця. Фізико-хімічні показники якості молока, $M \pm m$, $n=5$

Групи тварин	Жир, %	Білок, %	Масова частка сух. реч. %	Густина, °А	Кількість сом. кліт., тис./см ³
1. Контрольна	3,40±0,01	2,98±0,06	11,03±0,02	27,02±0,26	654,3±6,22
2. Дослідна	3,51±0,04 ***	3,41±0,06 ***	13,3±0,01 ***	29,44±0,11 ***	501,8±4,61* **
3. Дослідна	3,76±0,02 ***	3,52±0,07 ***	14,1±0,14 ***	30,01±0,31 ***	385,1±5,33* **
Норма ДСТУ 3662-97	–	–	≥11,8	≥27	≤400
	–	–	≥11,5	≥27	≤600
	–	–	≥10,6	≥27	≤800

Примітка. $P > 0,999$ ***.

Було встановлено, що рівень білку за дослідний період значно збільшився у корів II і III групи і в середньому становив 3,41 та 3,52 %, проти 2,98 % в контрольній групі. Найбільше збільшення білку відмічене в III дослідній групі. В порівнянні з середнім показником по цій групі на початку дослідного періоду вміст білку зби-

льшився майже на 0,87 %, а по II групі – на 0,7 %. В I контрольній групі вміст білку залишався майже на одному рівні і тільки під кінець дослідного періоду спостерігалось деяке коливання в сторону зниження: вміст білку в молоці корів I контрольної групи був нижче базисного показника на 3 %.

У токсикохімічному відношенні найбільш ефективно протидіють виділенню в молоко важких металів мінеральна кормова добавка стосовно свинцю і кадмію, аналогічно впливає фітобіопрепарат, але крім того фітобіопрепарат більш ефективно блокує цинк, а мінеральна добавка – мідь; стосовно ртуті слід – продовжити пошук.

За ефектом сумарного впливу від згодовування мінеральної кормової добавки і ін'єкції фітобіопрепарату на динаміку білкового показника також підтверджує специфічний коефіцієнт «urea ratio», (N креатинину + N уробіліну: N білку) (креатинин – уробіліновий індекс (I – 0,59; II – 0,66; III – 0,92) та коефіцієнт співвідношення еритроцитів до лейкоцитів сечі (I – 1,47; II – 3,81; III – 3,02), що свідчить про високу фізіологічну ефективність застосування контрзаходів і їх вплив на білковомолочність.

Але і кадмій, і ртуть, і свинець як важкі метали є отрутами також і для печінки, що вплинуло на резорбцію амінокислот та синтез білку для виділення в молоко. Про це також сві-

дчить вміст уробіліноїдів (уробіліну і уробіліногену), котрі є результатами ферментативних процесів в печінці чи жовчному міхурі. Уробінолія такого походження має місце внаслідок токсичного ушкодження печінки. Тому з сечею екскретувалося менше азоту креатинину та азоту уробіліну в сумі в порівнянні з екскрецією азоту білку і креатинин-уробіліновий індекс був (0,59) меншим у корів контрольної групи в порівнянні з його показником в сечі корів II дослідної (0,66) та III дослідної (0,92) груп. Поряд з цим більш висока екскреція азоту білку у корів контрольної групи свідчить про менш інтенсивний синтез та надходження в кров білкових речовин для збільшення його вмісту у молоці.

Слід зазначити, що завдяки застосуванню спеціальної кормової добавки і фітобіопрепарату було досягнуто не тільки збереження на високому рівні вмісту білку у молоці, але і зниження екскреції надзвичайно отруйного креатинину, що важливо для запобігання забруднення ним доквілля.

Висновки

Генетично обумовлений показник білковість молока може змінитися під впливом такого «ударного» фактора, як високий вміст важких металів в кормах. Збалансована вітамінно-мінеральна добавка, застосована при годівлі корів з препаратом «АВГОР-5», сприяла нормалізації такого генетичного показника, як вміст білку в молоці корів, котрий в зв'язку з антропо-

генним забрудненням став істотно знижуватися в біогеохімічній провінції центрального Донбасу з негативним антропогенним впливом, що позначилося на якості одержаної продукції, та може бути свідченням пригнічення генетично обумовленого потенціалу тварин в білковомолочності.

Література

1. Кулик М.Ф. Корми: оцінка, використання, продукція тваринництва, екологія. / За ред. М.Ф. Кулика, Р.Й. Кравців, Ю.В. Обертюха, В.В. Борщенко. – Вінниця: ПП «Видавництво «Тезис», 2003. – 334 с.
2. Хьюз М. Неорганическая химия биологических процессов. – М.: Мир, 1983. – С. 388–391.
3. Мушина Е.В. Изучение совместного биологического действия свинца и кадмия в эксперименте на животных // Гигиена и санитария. – 1989. – № 9. – С. 89–90.
4. Засекін Д.А., Захаренко М.О., Свиначенко О.І. Шляхи одержання екологічно чистої тваринницької продукції в регіонах України з високим рівнем важких металів у доквіллі // Збірник наукових праць Вінницького державного аграрного університету. Сучасні проблеми екології та гігієни виробництва продуктів тваринництва. – 2000. – Вип. 8, Т. 1. – С. 61.
5. Кандыба В.Н., Маменко А.М., Маренец В.Н. Влияние премиксов на продуктивность и жизнеспособность молодняка крупного рогатого скота // Зоотехния. – 2000. – №5. – С. 10–13.
6. Маменко О.М. Екологічні проблеми виробництва, переробки та забезпечення високої якості продуктів тваринництва // Збірник наукових праць Вінницького державного аграрного університету. Сучасні проблеми екології та гігієни виробництва продуктів тваринництва. – 2000. – Вип. 8, Т. 1. – С. 3–83.
7. ДСТУ 3662-97 «Молоко коров'яче незбиране» вимоги при закупівлі.
8. Кудрявцев В.Н., Васильев А.В., Морозов И.А. и др. Закономерности миграции и нормирование содержания тяжелых металлов в трофической цепи крупного рогатого скота // Докл. РАСХН, 1999. – С. 37–40.
9. Исамов Н.Н., Сироткин А.Н., Фесенко С.В. и др. Закономерности миграции техногенных загрязнителей в трофической цепи лактирующих коров // Экология. – 1998. – С. 441–446.

YEMETS Z.V., MAMENKO O.M., KHRUCKIY S.S.

*Kharkov state zooveterinary Academy, The Ministry Of Agrarian Of Ukraine
Ukraine, 62341, Kharkov, Small Danilovka, e-mail: zoya_emez@mail.ru*

CHANGES THE PROTEIN PERCENTAGE OF COWS UNDER THE INFLUENCE OF NEGATIVE FACTORS BIOGEOCHEMICAL PROVINCE

Aims. In the article the results of scientific and business experience, which was held in the zone of heavy metals contamination of the biogeochemical province in the negative anthropogenic impact on genetically predetermined quality indicator of protein in the milk of cows. Given production processing method for the production of environmentally safe milk and increasing percentage of protein in the milk of cows with the help of toxic action of mineral additives and biologically active preparation «AVGOR-5». **Methods.** Laboratory of physico-chemical tests of an experimental material with use of the method of atomic-absorption spectrophotometry AAS-30 (Carl Zeiss, Jena), held – biometric processing of the received results. **Results.** It should be noted that due to the application of special fodder additives and biologically active preparation was achieved not only the persistence of high levels of protein content in the milk, but also a decrease in urinary excretion of extremely toxic creatinine, which is important for prevention of environmental pollution. **Conclusions.** Genetically predetermined rate the protein percentage milk may change under the influence of such «shock» factor, as the high content of heavy metals in the feed. A balanced vitamin-mineral additives, used in the feeding of the cows with the product «AVGOR-5», contributed to the normalization of such genetic indicator, as the content of protein in the milk of cows, which in connection with the anthropogenic pollution is significantly decline in province of the Central Donbass with the negative anthropogenic influence that has affected the quality of the products obtained, and may be evidence of the oppression of genetically caused by the capacity of animals in the protein percentage.

Key words: protein in the milk of cows, genetically predetermined figure, the biogeochemical province, negative factors.

**ЖУКОВ В.А., СУЛИМА А.С., ЖЕРНАКОВ А.И., ШТАРК О.Ю., БОРИСОВ А.Ю.,
ТИХОНОВИЧ И.А.**

*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии Рос-
сельхозакадемии*

Россия, 196608, г. Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3, e-mail: zhukoff01@yahoo.com

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ НОВЫХ СОРТОВ ГОРОХА, УСТОЙЧИВЫХ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ

Горох посевной (*Pisum sativum* L.) подвергается нападению многих вредителей и патогенных микроорганизмов, включая насекомых, нематоды, бактерии, грибы и вирусы. Наиболее распространенными, а также наиболее вредными по степени воздействия, являются болезни, вызываемые грибами. Возбудитель мучнистой росы *Erysiphe communis* f. *pisi* (H.A. Dietr.) Jacz. является узкоспециализированным облигатным паразитом, распространенным во всех районах выращивания гороха. Мучнистая роса переносится воздушным путем и поражает листья, стебли, а также бобы. Заболевание негативно влияет на качество зернобобовой продукции, используемой в пищевой и кормовой промышленности. При сильном (до 90–100 %) поражении растений гороха мучнистой росой происходит снижение урожая зерна в 5 раз, также снижается содержа-

ние белка [4].

Защитные меры против мучнистой росы гороха включают в себя ранние посадки культуры, мелкодисперсный полив, использование фунгицидов и растительных экстрактов. Одним из наиболее известных способов является применение коллоидной серы или серосодержащих соединений. Альтернативой данным способам служит использование сортов, устойчивых к мучнистой росе, или введение генов устойчивости в уже существующие сорта, что должно приводить к снижению затрат на химическую обработку посевов и негативного эффекта от обработок.

У гороха посевного (*Pisum sativum* L.) известны три гена, определяющие устойчивость гороха к мучнистой росе: *er1*, *er2*, *Er3*. Данные гены были выявлены на основе анализа устой-

чивости растений гороха из природных популяций к заболеванию мучнистой росой. Большинство выявленных случаев имеют в основе рецессивную аллель единственного локуса *er1* [9].

У различных видов растений, таких как арабидопсис (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.), ячмень (*Hordeum vulgare* L.), томат (*Solanum lycopersicum* L.) и других, известны линии, обладающие устойчивостью к мучнистой росе, которая определяется мутацией с потерей функциональности в гене семейства *MLO*. Данное семейство кодирует белки, содержащие трансмембранные домены, которые сходны с рецепторами, сопряженными с G-белками (англ. G-protein-coupled receptors, GPCR) [1].

Недавно была выявлена последовательность гена гороха *PsMLO1* [2]. Тест на аллелизм между линией гороха с мутацией в гене *PsMLO1* и сортом Franklin, несущим аллель *er1*, определяющую устойчивость к заболеванию мучнистой росой, показал соответствие генов *PsMLO1*

Материалы и методы

Биологический материал. В работе были использованы следующие линии и сорта гороха посевного: устойчивые к мучнистой росе J192, J101, J105, J201, J210, J1128, J1171, J1559, J1951, J2019, J2302, Franklin, а также восприимчивая к мучнистой росе линия SGE. Линии J192, J101, J105, J201, J210, J1128, J1171, J1559, J1951, J2019 и J2302 любезно предоставлены Майком Амброзом (Mike Ambrose, John Innes Centre, Norwich, UK).

Молекулярно-биологические процедуры. Геномную ДНК выделяли из молодых листьев растений гороха с использованием буфера СТАВ по модифицированному протоколу Rogers, Bendich (1985). Тотальную РНК выделя-

ли и *er1* [6]. Также соответствие *PsMLO1* и *er1* было подтверждено с помощью транзientной экспрессии *PsMLO1* в листьях устойчивых к мучнистой росе линий гороха [2].

В практику мирового сельского хозяйства в последнее десятилетие активно внедряются сорта гороха, устойчивые к мучнистой росе. Линии и сорта, несущие подобные мутации в гене *PsMLO1*, являются перспективными донорами признака устойчивости к мучнистой росе. Для эффективного проведения селекции требуется разработка генетических маркеров, которые бы позволяли на самых ранних этапах проводить отбор гибридов. В настоящей работе были созданы молекулярные маркеры, пригодные для идентификации известных мутантных аллелей гена *PsMLO1*. Данные маркеры могут быть использованы в селекционной работе для создания новых сортов гороха, устойчивых к заболеванию мучнистой росой.

ли из молодых листьев растений гороха с использованием RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Германия) по протоколу производителя. кДНК синтезировали с использованием oligo-dT-праймера и обратной транскриптазы RevertAid H Minus Reverse Transcriptase (Thermo Scientific, США). ПЦР проводили в термоциклерах iCycler™ (BioRad, США) и Personal Cyler (Biometra, Германия). Секвенирование осуществляли на автоматическом приборе ABI PRISM 3500xl (Applied Biosystems, США) по протоколу производителя. Праймеры были синтезированы компанией «Евроген» (Москва, Россия).

Использовали следующий состав компонентов ПЦР (на 1 реакцию):

MgCl ₂	–	0,1 мМ
Нуклеотиды (каждый)	–	0,2 мМ
Праймер (каждый)	–	0,1 мкМ
Буфер для Taq-полимеразы	–	1x
Taq-полимераза	–	0,05 ед/мкл
ДНК-матрица	–	~5-10 нг.

Реакцию проводили в объеме 10 мкл. Количество циклов реакции – 35. Температура отжига праймеров составляла 60°C, время отжига 30 секунд, время элонгации 30 секунд. После окончания реакции реакцию смесь разделяли электрофорезом в 2 % агарозном геле в 0,5-кратном буфере ТАЕ.

Компьютерный анализ. В работе были ис-

пользованы следующие программы и сайты:

– данные по секвенированию нуклеотидных последовательностей обрабатывали с помощью приложения Contig Express из пакета программ Vector NTI 8.0.

– множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью серверов Multalin (<http://bioinfo.genopole->

toulouse.prd.fr/multalin/multalin.html) и ClustalW2 (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index.html>), а также в программе MEGA 5.05 [8].

Результаты и обсуждение

Последовательность гена гороха *PsMLO1*, мутации в котором придают растению устойчивость к заболеванию мучнистой росой (генетический символ *er1*), депонирована в базе данных NCBI под идентификатором FJ463618 [2]. К настоящему моменту проведена молекулярно-биологическая характеристика 5 мутантных аллелей данного гена [2, 5]. На основе этой информации возможно осуществлять маркер-ассоциированную селекцию гороха на устойчивость к мучнистой росе с использованием маркеров, представляющих определенные мутантные аллели гена *PsMLO1*. В качестве доноров признака устойчивости могут выступать различные линии и сорта, полученные независимо друг от друга, а также несущие не охарактеризованные ранее мутантные аллели гена *PsMLO1*. По этой причине возникает необходимость созда-

– дизайн праймеров осуществляли с помощью программ OligoCalc [3] и Primer3Plus [10].

ния молекулярных маркеров для каждой линии-донора.

Согласно литературным данным, растения сорта Franklin несут протяженную (более 20 000 п.н.) вставку транспозона в последовательности гена *PsMLO1*, вследствие чего в ходе сплайсинга образуется неверная последовательность мРНК, содержащая фрагмент транспозона и, таким образом, отличающаяся от мРНК «дикого типа» [5]. На основании этой последовательности в ходе данной работы были созданы праймеры (табл.), с помощью которых были амплифицированы фрагменты гена *PsMLO1* на геномной ДНК растений сорта Franklin (несущих вставку транспозона и устойчивых к мучнистой росе) и растений линии SGE (имеющих последовательность гена *PsMLO1* «дикого типа» и восприимчивых к мучнистой росе).

Таблица. Праймеры, использованные для амплификации фрагмента гена *PsMLO1*

Название праймера	Последовательность, 5' – 3'
PsMLO4	TGG TTG AGC CTG GAG ATC ACC
PsMLO8	CCA GTT CTT AAG CGC TGT TGC
MLO1_A	TAA CCT CTT GCT TCC ACA AAA CA
MLO1_C	GGT GGC GAC TCT TCT GTC AT

Секвенирование полученных фрагментов показало, что последовательность мРНК и геномной ДНК в области левой границы вставки транспозона идентичны. На основании полученной информации был создан молекулярный маркер типа RBIP (Retrotransposon-Based Insertion Polymorphisms), представляющий собой систему из 3 праймеров, которая позволяет по результату одной реакции ПЦР однозначно идентифицировать аллельное состояние гена *PsMLO1* у анализируемого растения (рис.).

Такая система праймеров включает:

праймер (А) – последовательность ДНК, комплементарная кодирующему участку гена *PsMLO1*;

– праймер (В) – последовательность ДНК, комплементарная кодирующему участку гена *PsMLO1*, которая вместе с праймером А позволяет амплифицировать фрагмент АВ на матрице ДНК природной аллели гена *PsMLO1* (соответствующей восприимчивости к мучнистой росе);

– праймер (С) – последовательность ДНК, комплементарная вставке транспозона в гене *PsMLO1*, присутствующей у растений сорта Franklin, которая вместе с праймером А позволяет амплифицировать фрагмент АС на матрице ДНК аллели гена *PsMLO1* со вставкой транспозона.

При этом размер фрагмента АС отличается от размера фрагмента АВ. Каждый из фрагментов можно отличить стандартными лабораторными методами, например, определив размер продукта амплификации после электрофореза в 2 % агарозном геле.

Для определения оптимальной комбинации трех праймеров были сконструированы различные варианты праймеров А, В и С, и проведена ПЦР со всеми возможными комбинациями праймеров на геномной ДНК, выделенной из листьев растений линии SGE и сорта Franklin (общее число комбинаций составило $2 \times 5 \times 5 = 50$). Размер продукта АВ составляет приблизительно 200 нуклеотидов, продукта АС – приблизительно 400 нуклеотидов.

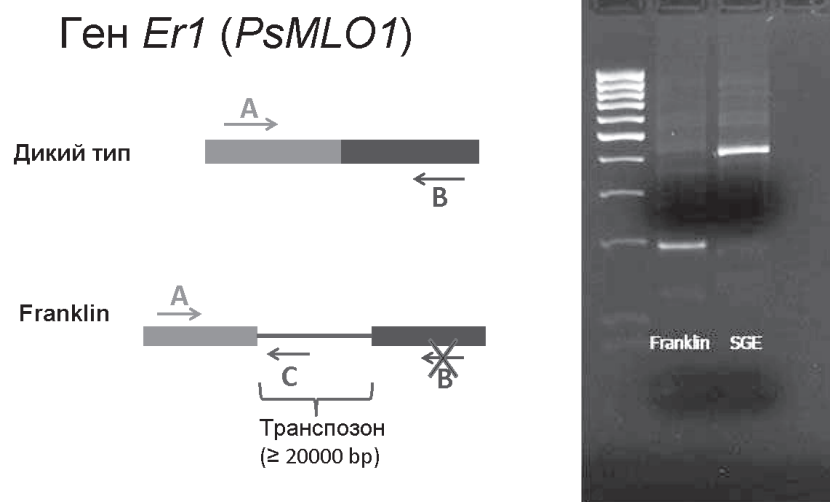


Рис. Молекулярный маркер для определения аллельного состояния гена *PsMLO1* у растений гороха, несущих вставку транспозона в указанном гене (Franklin) и не несущих ее (SGE, дикий тип)

Примечания: Слева – схема расположения праймеров относительно вставки транспозона, справа – результат электрофореза продукта реакции с оптимально работающими праймерами в 2%-ном агарозном геле.

Оптимальное сочетание трех праймеров является интеллектуальной собственностью, которая будет защищена в соответствии с законодательством РФ (подана заявка на патент, номер заявки 2012147570/20(076429)). Созданный молекулярный маркер (система праймеров) позволяет определять аллельное состояние гена *PsMLO1* у анализируемого растения (например, перспективного образца для создания селекционной линии) по результату одной реакции ПЦР с последующей детекцией размера продуктов (рис.). Данную систему можно применять при проведении селекционных работ с использованием сорта Franklin (либо другого сорта или линии,

имеющей аналогичную вставку транспозона) в качестве донора признака устойчивости к заражению мучнистой росой.

Аналогичные молекулярные маркеры планируется создать для других аллельных состояний гена *PsMLO1*, представленных у других линий-доноров признака устойчивости к мучнистой росе. Для этого в работе было проведено секвенирование кДНК *PsMLO1* у серии генотипов гороха, устойчивых к мучнистой росе. На основании информации об обнаруженных нуклеотидных заменах предложены способы использования данных отличий в последовательности ДНК в качестве молекулярных маркеров.

Выводы

На основании результатов секвенирования гена гороха *PsMLO1* разработаны молекулярные маркеры, позволяющие детектировать аллель-

ные состояния указанного гена, соответствующие устойчивости или восприимчивости гороха к заболеванию мучнистой росой.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Совета по грантам Президента РФ (НШ-337.2012.4), Министерства образования и науки (ГК №16.512.11.2155 и соглашения № 8056 и № 8109) и РФФИ (12-04-01687-а, 12-04-32126_мол-а, 13-04-01702-а и 13-04-01703-а).

Литература

1. Devoto A., Hartmann H.A., Piffanelli P., Elliott C., Simmons C., Taramino G., Goh C.-S., Cohen F.E., Emerson B.C., Schulze-Lefert P. Molecular phylogeny and evolution of the plant-specific seven-transmembrane MLO family // J. of Mol. Evol. – 2003. – Vol. 56, №1. – P. 77–88.
2. Humphry M., Reinstädler A., Ivanov S., Bisseling T., Panstruga R. Durable broad-spectrum powdery mildew resistance in pea *er1* plants is conferred by natural loss-of-function mutations in *PsMLO1* // Mol. Plant Pathol. – 2011. – Vol. 12, №9. – P. 866–878.
3. Kibbe WA. OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator // Nucleic Acids Res. – 2007. – Vol. 35

- (webservice issue). – W. 43–46.
- Mahmood T., Ahmad I., Qureshi S., Aslam M. Estimation of yield losses due to powdery mildew in peas // *Pak. J. Bot.* – 1983. – Vol. 15. – P. 113–115.
 - Pavan S., Schiavulli A., Appiano M., Marcotrigiano A.R., Cillo F., Visser R.G., Bai Y., Lotti C., Ricciardi L. Pea powdery mildew *er1* resistance is associated to loss-of-function mutations at a MLO homologous locus // *Theor. Appl. Genet.* – 2011. – Vol. 123, №8. – P. 1425–1431.
 - Pavan S., Schiavulli A., Appiano M., Miacola C., Visser R.F., Bai Y., Lotti C., Ricciardi L. Identification of a complete set of functional markers for the selection of *er1* powdery mildew resistance in *Pisum sativum* L. // *Mol. Breed.* – 2013. – Vol. 31, №1. – P. 247–253.
 - Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // *Plant Mol. Biol.* – 1985. – Vol. 5. – P. 69–76.
 - Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // *Mol. Biol. Evol.* – 2011. – Vol. 28, №10. – P. 2731–2739.
 - Tiwari K., Penner G., Warkentin T. Inheritance of powdery mildew resistance in pea // *Can. J. Plant Sci.* – 1997. – Vol. 77, №3. – P. 307–310.
 - Untergasser A., Nijveen H., Rao X., Bisseling T., Geurts R., Leunissen J.A.M. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3 // *Nucleic Acids Res.* – 2007. – Vol. 35 (webservice issue). – W. 71–74.

ZHUKOV V.A., SULIMA A.S., ZHERNAKOV A.I., SHTARK O.Y., BORISOV A.Y., TIKHONOVICH I.A.

All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology RAAS

Russia, 196608, Saint-Petersburg, Pushkin, Podbelsky ch., 3, e-mail: zhukoff01@yahoo.com

MOLECULAR MARKERS FOR BREEDING THE NEW PEA CULTIVARS RESISTANT TO POWDERY MILDEW

Aims. Powdery mildew is economically important disease of pea (*Pisum sativum* L.) as it causes severe losses of yield worldwide. Environmental friendly approach to control powdery mildew, in contrast to chemical protection, is use of the resistant cultivars. Mutations in pea gene *PsMLO1* that confer resistance to powdery mildew can be used as molecular markers for breeding resistant cultivars. **Methods.** Mutant allelic variants of *PsMLO1* were sequenced in resistant pea cultivars and lines in order to detect SNPs and/or indels suitable for creation PCR-based molecular markers. **Results.** The system of 3 primers was designed that allows one-step PCR-based identification of natural mutant allele *PsMLO1* with transposon insertion in reading frame that presents in resistant pea cultivar Franklin. **Conclusions.** This molecular marker can be used for breeding resistant cultivars when taking cultivar Franklin (as well as related lines and cultivars) as donors of powdery mildew resistance trait.

Key words: *Pisum sativum* L., powdery mildew, molecular markers, resistance, breeding.

ЗАДОРОЖНА О.А.

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

Україна, 61060, Харків, Московський пр., 142, e-mail: olzador@ukr.net

ПОЛІМОРФІЗМ МАРКЕРНИХ ЛОКУСІВ, ЗЧЕПЛЕНИХ З QTL, ЩО КОНТРОЛЮЮТЬ ОЗНАКИ НАСІННЯ

Однією з важливіших олійних культур в Україні є соняшник. Серед виробництва олійних культур його частка становить майже 70 %. Спостерігається тенденція до збільшення виробництва насіння соняшнику. У 2011 році врожай цієї культури становив 8,7 млн тон, що на 28 % перевищує показники 2005 року [1]. У світовому виробництві соняшник займає лише 9 % після сої, ріпаку та бавовни. Україна за цим показни-

ком займає одне з перших місць, чергуючись з Росією та Аргентиною. Україна є одним з лідерів світового експорту продуктів переробки. Так за даними 2012 року Міністерства сільського господарства США (USDA) доля України в світовій торгівлі соняшnikовою олією оцінюється на рівні 57 %, що підтверджує лідерство за експортом цього продукту. Для порівняння експорт олії з Росії становить 11 % світового продажу, з

Аргентини – 17 %.

Важливими завданнями в галузі селекції соняшнику є створення нових сортів і гібридів з високою продуктивністю, підвищеним вмістом олії в насінні, високою стійкістю до несприятливих біотичних та абіотичних чинників навколишнього середовища та інші [2].

Вміст олії в насінні є комплексною ознакою, яка залежить від генотипу та умов навколишнього середовища [3]. Відомі роботи по генетичному контролю кількісних ознак, зокрема вмісту олії та прослідковування їх успадкування в поколіннях F₂ та F₃, визначенню генетичних відносин між вмістом олії та кількістю днів до цвітіння. Встановлено, що насіння пізньоквітучих форм має менший вміст олії ніж ранньоквітучих. На досліджених формах встановлено проміжне успадкування вмісту олії [2, 3]. За даними інших дослідників вміст олії має відносно високий рівень успадкування (0,6–0,7). Описано морфологічний маркер на низький вміст олії. Насіння з білим лушпинням має нижчий вміст олії, ніж насіння з не пігментованим [3].

Використовуються нові підходи до визначення вмісту олії в насінні та складу жирних кислот. Поряд з традиційним методом аналізу вмісту олії за допомогою ядерного магнітного резонансу та складу жирних кислот за допомогою методом газової хроматографії успішно використовується метод ближньої інфрачервоної спектроскопії (NIRS) [4].

У сучасній селекції соняшнику велика увага приділяється складу олії. В Інституті рослинництва ім. В.Я. Юр'єва створені форми з різним складом жирних кислот. Так створені форми з підвищеним вмістом пальмітинової (C 16:0) кислоти (до 40 %), стеаринової (C 18:0) (до 11 %), олеїнової (C 18:1) (до 95 %), зменшеним вмістом лінолевої (C 18:2) (до 0,7 %) та лінолевої кислоти (C 18:3). Сучасні лінії були створені на основі мутантних форм [2]. За даними вітчизняних дослідників створені батьківські форми з відповідним вмістом жирних кислот. При аналізі гібридів констатувався широкий розмах ефектів домінування для цих жирних кислот, що викликає певні труднощі при доборі вихідного матеріалу для схрещувань.

Дослідження генетичного контролю насичених жирних кислот досить обмежені. Відомо про генетичний контроль пальмітинової кислоти [5, 6, 7]. За вмістом пальмітинової кислоти спостерігається проміжне успадкування та значне варіювання за цим показником. Вважається, що генетичний контроль забезпечується генами,

розташовані в трьох локусах [6]. Спроби маркування показників насичених жирних кислот морфологічними маркерами, зокрема зчеплення з кольором лушпиння успішними не виявились [7]. Досліджено генетичний контроль високого вмісту стеаринової кислоти. При аналізі мутантної форми CAS-3 констатується материнський контроль цієї ознаки в одному випадку, монолокусний моногенний або дилокусний дигенний контроль з проміжним успадкуванням в залежності від підібраних батьківських форм [8]. При аналізі іншої мутантної форми CAS-14 високий вміст стеаринової кислоти контролювався одним рецесивним геном [9]. При схрещуванні ліній CAS-3 та CAS-14 встановлено, що алелі, які контролюють високий вміст стеаринової кислоти, лежать в різних локусах. Спостерігали трансгресію за низьким вмістом стеаринової кислоти.

Досить поширеним серед дослідників є аналіз вмісту та успадкування олеїнової кислоти. Досліджено успадкування вмісту олеїнової кислоти в лініях соняшнику. Встановлено вплив на цей показник року культивування та генотипу зразка [10].

Проведені спроби оцінки складу жирних кислот з урахуванням регіону культивування, дати посіву та року репродукції. Встановлено, що підвищена температура під час розвитку насіння призводить до підвищеного вмісту олеїнової кислоти [11, 12]. При більш низьких мінімальних нічних температурах доля олеїнової кислоти зменшувалась, а лінолевої збільшувалась. З даними авторів місце вирощування соняшнику для складу жирних кислот мають більш важливе значення, ніж дата посіву.

Застосовуються сучасні молекулярні і класичні генетичні методи для забезпечення ефективних підходів в створенні олеїнового соняшнику, у якого вміст олеїнової кислоти вищий за 75 % замість звичайних 25 %. Безумовно, мають перспективи роботи по створенню генетично модифікованого соняшнику. Відомі роботи про клонування фрагментів геному соняшнику, який несе мутації, що зумовлюють високий вміст олеїнової кислоти в насінні [13].

Відомо, що олія з генетично-модифікованого соняшнику має вищу стабільність проти окиснення під час збереження та глибокого зажарювання ніж звичайного соняшнику. В цих формах генетично-модифікованого соняшнику зменшувалась кількість лінолевої кислоти з 29 до 5 %, збільшувалась кількість олеїнової кислоти з 17 до 87 %. [14]. За допомогою RELP-аналізу встановлено алель, який ко-

релював з високим вмістом олеїнової кислоти, що дало можливість використовувати цей мутантний алель ($\Delta 12HOS$), як маркерний [15].

Досліджується якісний складу олії, в яких були спроби визначити локалізацію генів, що контролюють ці ознаки. Використовуючи AFLP та RELP маркери ці локуси були картовані на першій (LG1) та чотирнадцятій (LG14) хромосомах для стеаринової (C18:0) та олеїнової (C18:1) відповідно. Гени, що впливають на рівень стеаринової та олеїнової кислоти були ідентифіковані на восьмій хромосомі (LG8). Цей QTL демонстрував значну епістатичну взаємодію з локусом на LG14 та модифікував дію гену *O1*, що контролює вміст олеїнової кислоти [16].

Матеріали і методи

Матеріалом для досліджень було насіння ліній X114B (вміст стеаринової кислоти 10 %), X526B (вміст олеїнової кислоти 90 %), X720B (вміст лінолевої кислоти 67 %), X762B (вміст лінолевої кислоти 67 %). Загальна олійність для використаних зразків була відповідно 40 %, 49 %, 37 % та 37 %. Досліджувались також зразки соняшнику X711B, X714B, X782B, 8-X840B з олійністю відповідно 50 %, 51 %, 50 %, 48 % [18]. Визначення вмісту олії проводилось за допомогою методу ядерного магнітного резонансу. Склад жирних кислот вивчався за допомогою хроматографічного аналізу.

Для диференціації ліній використовували мікросателітні маркери. Мікросателітний аналіз проводився на основі генетичної карти зчеплен-

Результати та обговорення

У проведених нами дослідженнях встановлено поліморфізм локусів, які тісно зчеплені з локусами кількісних ознак (QTL), що контролюють ознаки насіння. Поліморфізм цих локусів раніше не досліджувався [20]. Локуси ORS 371 (LG1), ORS1068 (LG2), цікаві як локуси, що маркують олійність та інші цінні ознаки насіння. Для локусу ORS 371 встановлені алелі 168, 226, 250, 256, 264, 390, 467.

Для локусу ORS1068 встановлені такі алелі: 306, 340, 367, 427, 504, 641. Найпоширенішими були алелі 306, 340, 367 (рис.).

Використані маркери доповнюють дані по

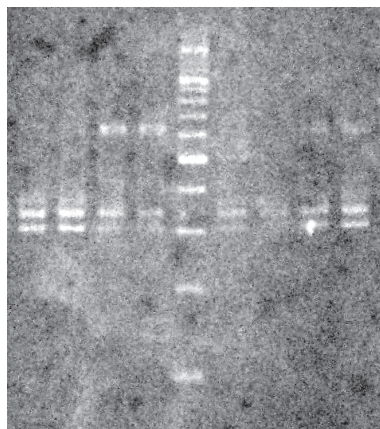
Відомі роботи по дослідженню вмісту олії в насінні соняшнику з використанням відповідних RELP маркерів, розташованих на 17 групах зчеплення [17]. У досліджених форм F1 спостерігали проміжне успадкування високого вмісту олії.

Таким чином, дані по маркуванню генів, що контролюють вміст олії досить обмежені.

У зв'язку з цим, метою нашої роботи було визначити поліморфізм локусів, що контролюють ознаки насіння, дослідити можливість диференціювати за допомогою мікросателітних маркерів лінії соняшнику з відомим вмістом олії та різним складом жирних кислот.

ня за локусами кількісних ознак (QTL), які контролюють ознаки насіння та маркерних локусів ORS 371 (LG1), ORS1068 (LG2). Для молекулярно-генетичного аналізу екстракцію ДНК проводили з використанням СТАВ-методу [19]. Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) проводили за стандартною методикою в термоциклері «Терцик» («ДНК-технологія», Росія). Продукти ампліфікації розподіляли у 2 % агарозному гелі в однократному TBE буфері. Маркером молекулярних мас був O'Range Ruler 100 bp DNA Ladder («Fermentas»). Візуалізацію проводили з використанням етідіум броміду за допомогою трансільюмінатора UVT-1 («Біоком», Росія). Результати аналізували за допомогою програми Gel Images-2 («Хелікон», Росія).

паспортизації даних зразків, але не дають можливість диференціювати ці лінії за вмістом олії. Слід, однак, зазначити, що більшість використаних ліній мали близький вміст олії. Використані лінії з різним складом жирних кислот в досліджених локусах в окремих випадках мають різний склад алелів. Так для високо олеїнової лінії X526B в локусі ORS1068 крім типових алелів 306, 340, та 641 відзначали алель 427, який не спостерігали у інших ліній. Для лінії X114B з високим вмістом стеаринової кислоти були характерні лише алелі 306 та 340, які також зустрічались у інших ліній.



1 2 3 4 M 5 6 7 8

Рис. Електрофореграма продуктів ампліфікації по локусу ORS1068 у 2 % агарозі

Примітки: 1,2 – X114B; 3,4 – X526B; M- маркер молекулярної маси 100 bp; 5,6 – X720B; 9,10 – X762B.

Висновки

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про наявність поліморфізму в маркерних локусах, які зчеплені з QTL, що контролюють ознаки насіння. Одержана інформація доповнює дані по паспортизації

вивчених ліній соняшнику. Використані маркери не дозволили диференціювати лінії за вмістом олії. Виділена форма з високим вмістом олеїнової кислоти, яка має характерний алельний склад маркерного локусу.

Література

1. Маслак О. Соняшникові прогнози // Агробізнес сьогодні. – 2012. – №20 (243) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: www.agro-business.com.ua
2. Кириченко В.В. Селекція і семеноводство подсолнечника (*Helianthus annuus* L.). – Харків, 2005. – 385 с.
3. Leon A.J., Andrade F. H., Lee M. Genetic analysis of seed-oil concentration across generations and environments in sunflower // *Crop Sci.* – 2003. – Vol. 43. – P. 135–140.
4. Pérez-Vich B., Velasco L., Fernández-Martínez J. M. Determination of Seed Oil Content and Fatty Acid Composition in Sunflower Through the Analysis of Intact Seed, Husked Seeds, Meal and Oil by Near-Infrared Reflectance Spectroscopy // *JAOCS.* – 1998. – Vol. 75. – P. 547–555.
5. Velasco L., Perez-Vich B., Fernandez-Martínez J.M. A new sunflower mutant with increased levels of palmitic acid in seed oil // *Helia.* – 2008. – Vol. 31, №48. – P. 55–60.
6. Perez-Vich, B., J. Fernandez, R. Garcés, and J.M. Fernandez-Martínez Inheritance of high palmitic acid content in the seed oil of sunflower mutant CAS-5//*Theoretical and Applied Genetics.* – 1999. – Vol. 98. – P. 496–501.
7. Vick B., Jan C.C., Miller J. Inheritance of reduced saturated fatty acid content in sunflower oil // *Helia.* – 2002. – Vol. 25, №36. – P. 113–122.
8. Perez-Vich, B., Garcés R., Fernández-Martínez J.M. Genetic control of high stearic acid content in the seed oil of sunflower mutant CAS-3 // *Theoretical and Applied Genetics.* – 1999. – Vol. 99. – P. 663–669.
9. Pérez-Vich B., Velasco L., Muñoz-Ruz J., Fernández-Martínez J.M. Inheritance of High Stearic Acid Content in the Sunflower Mutant CAS-14 // *Crop Science.* – 2006. – Vol. 46. – P. 22–29.
10. Vares D., Lacombe S., Griveau Y., Berville A., Kaan F. Inheritance of oleic acid content of F1 seed in a complete diallel cross between seven sunflower lines // *Helia.* – 2002. – Vol. 25. – №36. – P. 105–112.
11. Izquierdo N.G., Aguirrezábal L.A., Andrade F.H., Cantarero M.G. Modeling the response of fatty acid composition to temperature in a traditional sunflower hybrid // *Agron. J.* 2006. – Vol. 98. – P. 451–461.
12. Onemli F. Impact of climate changes and correlations on oil fatty acids in sunflower // *Pak. J. Agri. Sci.* – 2012. – Vol. 49, №4. – P. 455–458.
13. Lacombe S., Kaan F., Griveau Y., Berville A. The prevents high oleic mutation: methodological studies // *Helia.* – 2004. – Vol. 27, №40. – P. 41–54.
14. Smith S.A., King R.E., Min D.B. Oleic acid rich sunflower give trans-fat alternative study // *Food Chemistry.* – 2007. – Vol. 102, Is. 4. – P. 1208–1213.
15. Lacombe S., Bervillé A. A dominant mutation for high oleic acid content in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed oil is genetically linked to a single oleate-desaturase RFLP locus // *Molecular Breeding.* – 2001. – Vol. 8, №2. – P. 129–137.

16. Pérez-Vich B, Fernández-Martínez J.M, Grondona M., Knapp S.J., Berry S.T. Stearoyl-A. CP and oleoyl-PC desaturase genes cosegregate with quantitative trait loci underlying high stearic and high oleic acid mutant phenotypes in sunflower // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2002. – Vol. 104. – P. 338–349.
17. Leon F.J., Lee M., Rufener G.K. et al. Use of RELP Markers for Genetic Linkage Analysis of Oil Percentage in Sunflower Seed // *Crop Sci*. –1995. –Vol. 35. –P. 558–564.
18. Кириченко В.В., Аладьина З.К., Гуменюк А.Д. и др Каталог рабочей коллекции самоопыленных линий подсолнечника Института растениеводства им. В.Я. Юрьева. – Харьков, 1996. – 88 с.
19. Сиволап Ю.М., Кожухова Н.Э., Календарь Р.Н. Вариабельность и специфичность геномов сельскохозяйственных растений. – Одесса: Астропринт, 2011. – 336 с.
20. Саналатий А.В., Солоденко А.Е., Сиволап Ю.М. Идентификация генотипов подсолнечника украинской селекции при помощи SSR – анализа // *Цитология и генетика*. –2006. – Т. 40, №4. – С. 37–43.

ZADOROZHNA O.A.

Plant production Institute n. a. V.Ya. Yuriev

Ukraine, 61060, Kharkiv, Moskovsky pr., 142, e-mail: olzador@ukr.net

POLIMORPHISM OF MARKER LOCI, LINKED WITH QTL CONTROLLED SEED TRAITS

Aims. Marker assisted selection of sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines with different seed oil content and some fatty acids. **Methods.** SSR-analysis, oil content, fatty acids analysis of sunflower lines. **Results.** There is a polymorphism in marker loci, which tightly linked with QTL controlled oil content and other seed traits.

Conclusions. The polymorphism of loci ORS371 and ORS1068 is not enable for marker assisted selection of seed oil content. There is a high oleic acid content line with special marker allele.

Key words: *Helianthus annuus*, marker assisted selection, seed oil content, fatty acids.

ЗАХАРОВА В.А., ЗАХАРОВ М.В., ХИЛЬКО В.Т.

Таврійський державний агротехнологічний університет

Україна, м. Мелітополь, e-mail: sachar.aleksej@mail.ru

СЕЛЕКЦІЯ ЯБЛУНІ НА ПОЛІПЛОЇДНОМУ РІВНІ

Метод експериментальної поліплоїдії порівняно молодий і його стали широко застосовувати після відкриття фізичних і хімічних мутагенів. Підвищення продуктивності нерозривно пов'язане з успіхами селекційної роботи. Все більшого значення набуває селекція сортів, які поєднують високу продуктивність з хорошою якістю продукції і повинні стабільно зберігати свої позитивні ознаки у будь-яких умовах вирощування. У цьому зв'язку проблема створення цінного вихідного матеріалу є досить актуальною. Найважчий у розпорядженні селекціонерів-плодоводів генофонд не може повністю забезпечити вирішення поставлених завдань. Виникла необхідність розробити нові методи зміни спадковості, які давали б можливість у більшому масштабі індукувати мутаційну і рекомбінційну мінливість.

Виникнення нових поліплоїдних форм часто пов'язані з розширенням ареалу виду. Поліплоїдія веде до накопичення мутаційних змін, у тому числі в гомологічних хромосомах: зміни закономірностей розширення ознак, насамперед пов'язаних з ефектом дози,

множинним алелізмом і полігенною регуляцією, а так само до розширення діапазону оптимальної біохімічної діяльності і підвищенню екологічної пластичності [1, 2, 3, 4]. Для успішного вирішення проблеми створення нових цінних сортів на основі використання методу поліплоїдії необхідно створити колекцію тетраплоїдів, придатних в якості вихідних форм-донорів диплоїдних гамет [5]. Необхідно також:

- виявлення диплоїдних сортів здатних формувати нередуковані гамети [3, 5];
- цитоембріологічне вивчення поліплоїдних форм з метою оцінки придатності їх для використання в селекції на поліплоїдному рівні [5, 6].

Яблуня – головним чином є перехресно запильна культура, тому врожайність її багато в чому залежить від стану генеративної сфери до моменту запилення і запліднення.

У даний час питання, пов'язані з вивченням морфології мейозу при мікроспорогенезі і формуванні жіночого гамітофіта у диплоїдних сортів яблуні виду

Malus domestica Borkh. Можна вважати вивченими досить повно. Є, так само роботи, присвячені питанням мікро- і макроспорогенезу, формуванню зародкового мішка у триплоїдних сортів яблуні [3, 5]. Відомості про генеративну сферу групи тетраплоїдних сортів і форм досить обмежені [5]. Це пояснюється, тим, що тетраплоїдні сорти і форми не знайшли практичного використання в наслідок, як правило, невисокої господарської цінності.

Матеріали і методи

Об'єктами вивчення послужили поліплоїдні форми, отримані методом індукованого мутагенезу, одні з яких є диплоїдно-тетраплоїдними химерами, інші – гомогенними тетраплоїдами [6].

Субепідермально шар конуса наростання відповідальний за формування гамет у всіх цих формах і має тетраплоїдний набір хромосом ($2n = 4x = 68$). Отже, при нормальному перебігу

Результати та обговорення

У результаті вивчення ходу мейозу при мікроспорогенезі на всіх послідовних фазах нами встановлено, що досліджені поліплоїдні форми характеризуються значним числом порушень. Вивчення мейозу у яблуні, навіть у диплоїдних сортів, а тим більше у тетраплоїдних форм є вельми складною процедурою через велику кількість хромосом. Щільність хромосомних асоціацій в мікроспороцитах настільки висока, що значно ускладнює детальний аналіз мейозу, особливо у метафазі 1 і 2, коли можна з'ясувати характер кон'югації хромосом, їх числовий розподіл.

При порівнянні диплоїдів і тетраплоїдів встановлено, що у більшості з них морфологічні

Включення тетраплоїдних сортів і форм в селекційну програму, як вихідного матеріалу для масового отримання триплоїдів, є досить перспективним. Знаючи цитоембріологічні характеристики поліплоїдних форм, селекціонер може передбачити результати запланованих схрещувань, намітити відповідний обсяг гібридизації та обґрунтовано пояснити одержані дані.

мейозу вони повинні формувати гамети з $n = 2x = 34$. Це необхідна умова для отримання триплоїдного потомства від схрещування цих форм з диплоїдними сортами. Цитологічні дослідження проводили на давлених препаратах за загальноприйнятою методикою. Статистичну обробку експериментальних результатів проводили методом дисперсійного аналізу [8].

типи порушень у відповідних фазах мейозу виявляють певний паралелізм.

Найменшим числом порушень (табл.), а отже і більш правильним ходом мейозу відрізняється форма 2–14, отримана від вихідного сорту Ренет Симиренка. Найвища кількість порушень у цієї форми спостерігається в метафазі 1–36,5 %. У форми 15–19 (вихідний сорт Зірка), і 20–8 (вихідний сорт Слава Переможцям) спостерігається наступна закономірність: знижуються кількість порушень в анафазі 1 і телофазі 1, потім в метафазі 2 знову різко зростає, а в анафазі 2 і телофазі 2 – знову знижується. При утворенні тетрад кількість порушень, як правило, найменша (табл. 1).

Таблиця. Характеристика мейозу у деяких поліплоїдних форм яблуні, % порушень

Фази мейозу, тетради	Індуковані форми		
	15 – 19	2 – 14	20 – 8
Метафаза 1	63,1±2,75	36,5±3,6	70,2±2,96
Анафаза 1	45,1±4,73	34,5±29,40	35,60±3,79
Телофаза 1	33,9±3,59	5,95±1,51	24,1±2,97
Метафаза 2	49,9±3,70	8,90±1,80	40,3±3,00
Анафаза 2	31,3±3,87	15,0±2,40	29,6±2,95
Телофаза 2	22,1±2,71	4,0±0,80	8,4±1,65
Тетради	8,4±1,12	1,9±1,78	18,0±2,50

Порівняльне вивчення мейозу у поліплоїдних форм і їх диплоїдних аналогів дозволило встановити, що у тетраплоїдних і їх вихідних диплоїдних форм зазвичай зустрічаються одні і ті ж типи порушень. Різняться лише їх частота. У тетраплоїдних форм порушення у відповідних фазах зустрічаються, як правило, значно частіше, ніж у диплоїдних аналогів. Крім того, в деяких випадках відхилення специфічні для сортів. В результаті деяких відхилень у ході мейозу форми, які, здавалося б, повинні однаковою мірою формувати диплоїдні гамети ведуть себе по-різному. Крім значної кількості пилку, що утворюється в результаті порушення числового розподілу хромосом, у деяких форм з'являється певна кількість гаплоїдного пилку замість очікуваної диплоїдної, що вносить істотні поправки в результати селекційної роботи. Від гібридизації диплоїдних сортів з такими формами утворюється деяка кількість диплоїдних рослин. Це слід враховувати при використанні поліплоїдних форм у схрещуванні.

Тетраплоїдні форми 15–19, 2–14, 20–8 вивчали на фоні їх диплоїдних аналогів. Загальна схема розвитку жіночого гаметофіта у диплоїдних і поліплоїдних форм однакова. Як у тих, так і інших сім'ябруньки закладаються навесні в останній декаді квітня. В кінці квітня – на початку травня (залежно від погодних умов) відбувається диференціація сім'ябруньки, відокремлюється багатоклітинний археспорій. На початку першої декади травня завершується мейоз в материнській клітині макроспор, відбувається формування гаметофіту, яке до середини травня у більшості розглянутих форм закінчується. Терміни проходження окремих фаз мейозу у поліплоїдних форм і їх диплоїдних аналогів або збігаються, або декілька зміщені в бік більш пізнього настання відповідних фаз у поліплоїдних форм. Відхилень у будові

Висновки

На основі експериментальних даних можна констатувати, що мейоз у поліплоїдних форм яблуні відбувається зі значними порушеннями. Більше порушень спостерігається у метафазі 1, кількість порушень знижується в анафазі 1 і телофазі 1, потім різко зростає в метафазі 2 і знову знижується в анафазі 2 і телофазі 2. Є також сортові особливості. При порівнянні диплоїдів і тетраплоїдів

зародкових мішків у поліплоїдних форм, у порівнянні з диплоїдними, в більшості випадків не відмічено. До моменту розкриття квітки у всіх форм спостерігається значна кількість нормальних зародкових мішків, здатних до запліднення.

Для порівняння наводимо господарсько-біологічну характеристику деяких поліплоїдних форм:

2–14 – диплоїдно-тетраплоїдна химера сорту Ренет Симиренка характеризується стриманим ростом дерева, рідкою кроною, що складається з товстих гілок, які обростають потужними кільчатках. По зимостійкості поступається вихідному сорту. Урожайність помірна. Стійкість до парші плодів і листя середня. Плоди великі 120–130 г плескато-округлі. М'якуш білий, щільний, соковитий, кислий.

15–19 – диплоїдно-тетраплоїдна химера сорту Зірка. Дерево середньої сили росту, з рідкісно розкидистою кроною, що складається з потужних гілок. Врожайність висока. Стійкість до парші плодів і листя висока. Плоди великі (до 200 г). У вихідного сорту плоди набагато дрібніші (115 г). М'якуш білий, соковитий. Знімальна стиглість плодів настає в серпні. Плоди можуть зберігатися до лютого.

20–8 – диплоїдно-тетраплоїдна химера сорту Слава Переможцям. Дерева помірного зростання з округлою кроною і численними порівняно тонкими основними гілками. Зимостійкість в умовах півдня України недостатньо вивчена. У пору плодоношення вступає пізно. До парші плодів і листя стійка. М'якуш щільний, гарного кисло-солодкого смаку з підвищеним вмістом аскорбінової кислоти. Основне забарвлення зеленувато-жовте, покривне – у вигляді розмитого рум'янцю. Представляє інтерес як донор диплоїдних гамет.

морфологічні типи порушень виявляють певний паралелізм у відповідних фазах мейозу. Вивчення господарсько-біологічної характеристики деяких диплоїдно-тетраплоїдних химер, отриманих від сортів яблуні Ренет Симиренка, Слава Переможцям і Зірка показало, що методом експериментальної поліплоїдії можна створювати вихідний матеріал на поліпшення генофонду яблуні.

Література

1. Бреславец Л.П. Полиплоидия в природе и опыте. – М., 1963. – 364 с.
2. Потапов С.П., Канашина Р.А., Захарова В.А. Улучшение качества плодов яблони путем индуцированного мутагенеза // Вторая Всесоюзная конференция по с-х радиобиологии. Тез.докл. – Обнинск, 1984. – Т. 2. – С. 53–54.
3. Dermen H. Three additional endogenous tetraploids from giant apple sports // Am.J.Bot., 1955. – V. 42. – P. 837–841.
4. Захарова В.О., Герасько Т.В., Хилько В.Т., Захаров М.В. Экспериментальний мутагенез в селекції яблуні; Зб.наук.праць // НАН України, НААН України, НАМН України, Укр.т-во генетиків і селекціонерів ім.М.І. Вавилова. – К.: Логос, 2012. – Т. 3. – С. 60–65.
5. Vaarama A. Meiosis and poliploid characters in the tetraploid apple Variety Hiberna // Hereditas, – 1948. – Vol. 34, №1-2. – P. 147–160.
6. Седов Е.Н., Седышева Г.А. Роль полиплоидии в селекции яблони. – Тула, 1985. – 146 с.
7. Канашина Р.А., Захарова В.А. Влияние гамма-излучения на некоторые хозяйственно-ценные признаки яблони // Сб. научных трудов. – М.: ТСХА, 1986. – С. 3–7.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. школа, 1980. – 293 с.

ZAKHAROVA V.A., ZAKHAROV M.V., KHIL'KO V.T.

Tavria State Agrotechnical University of Melitopol

Ukraine, 72312, Melitopol, Sverdlova str., 68, e-mail: sachar.aleksej@mail.ru

SELECTION OF APPLE-TREE ON POLIPLIROID LEVELS

Aims. To work out new methods changes of heredity, that would give an opportunity in a greater scale to induce mutational and recombination changeability. **Methods.** Cytologic research on the generally accepted methodology. **Results.** Through the study of diploid – tetraploid chimeras derived from experimental mutagenesis, the number of violations found in the different phases of meiosis. Characterized some diploid – tetraploid chimeras with valuable economic and biological traits.

Key words: feedstock, polyploidy, chromosomes, meiosis, gametes, chimeras, microsporogenesis, macrosporogenesis.

КАТЕРИНЧУК О.М., ЧУГУНКОВА Т.В.

Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України

03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17, e-mail: katernychuks@mail.ru

ОПТИМАЛЬНІ ДОЗИ ХІРАЛЬНИХ МУТАГЕНІВ В ІНДУКУВАННІ ВИДИМИХ МУТАЦІЙ НА ОЗИМІЙ М'ЯКІЙ ПШЕНИЦІ

Провідне місце серед генетичних методів селекції, які використовуються для збагачення генетичного різноманіття та виведення нових високопродуктивних сортів культурних рослин, займає експериментальний мутагенез. Станом на 2012 рік зареєстровано більш ніж 3200 мутантних сортів рослин, із яких 87 % створені з використанням фізичних і 13 % – хімічних мутагенів. За допомогою мутаційної селекції в 2011 році у світі створено більше 250 сортів озимої м'якої пшениці [1].

Озима пшениця є головною продовольчою культурою серед зернових і за посівними площами займає в Україні перше місце. Для підвищення врожайності та росту валових зборів зерна важливим є збагачення та урізноманітнення генофонду пшениць. В Україні чільне місце по

одержанню нових сортів озимої пшениці займає Інститут фізіології рослин та генетики НАН України, де виведено 116 нових мутантних сортів озимої пшениці, гібридів кукурудзи та інших культур [2].

На сьогодні найбільш поширеними високоефективними мутагенними чинниками, є гамма-промені, а також такі хімічні супермутагени як N-нітрозоетилсечовина, N-нітрозометилсечовина, N-нітрозодиметилсечовина, етиленімін, етилметансульфонат, 1,4-бисдіазаацетилбутан та інші. Але у практиці застосовуються небагато з них. Подальший розвиток досліджень з мутаційної селекції рослин може бути пов'язаний з відкриттям нових високоактивних хімічних мутагенів. Кращі мутагени повинні забезпечувати отримання мутацій з високою частотою і широ-

ким спектром корисних ознак. Хіральні речовини, механізм дії яких пов'язаний з різною оптичною активністю стереоізомерів, є привабливими

для застосування в експериментальному мутагенезі рослин [3, 4].

Матеріали і методи

Матеріалом дослідження були сорти озимої м'якої пшениці Кірена (вітчизняної селекції) і Federer (чеської селекції). В якості мутагенів використовували хіральні нітрузоалкілсечовини: R(-) і S(+) 1-N-нітрузо-1-N-метил-3-N-вторбутилсечовина (НМвБС) синтезовані в лабораторії стереохімії Інституту хімічної фізики ім. М.М. Семенова РАН*.

Насіння (по 1000 зерен у кожному варіанті досліду) обробляли хіральними мутагенами у концентраціях 0,005; 0,01; 0,03; 0,05 % за загально прийнятою методикою. Контролем було насіння відповідного сорту, оброблене водою. Для порівняння дії різних мутагенів на рослини пшениці використовували нітрузоетилсечовину

(НЕС) у оптимальних концентраціях 0,0125 і 0,025 % та гамма-промені (ГП) у дозі 100 Гр. Експозиція при обробці насіння хімічними мутагенами складала 18 годин.

Рослини вирощували на полях дослідного господарства Інституту фізіології рослин і генетики НАН України (сmt Глеваха Васильківського району Київської області). Визначали польову схожість насіння пшениці та виживаність після весняного відновлення вегетації рослин. Мутації визначали шляхом добору змінених рослин на всіх фазах розвитку та аналізу успадкування змінених ознак в поколіннях M_2 – M_3 . Статистичну обробку результатів дослідів проводили за методикою [5].

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 мутагену [6–8]. Результати вивчення польової схожості насіння та виживання рослин сортів Кірена та Federer у зимовий період представлені в таблиці 1. Майже в усіх варіантах обробки мутагенами виявлено зниження польової схожості насіння в порівнянні з контролем. Винятком були варіанти обробки R(-) НМвБС у найнижчій концентрації (0,005 %).

Спостерігали лінійну залежність між дозою та польовою схожістю насіння. За максимальної концентрації (0,05 %) обох стереоізомерів виявили найбільшу пригнічуючу дію на схожість насіння. Так, за дії S(+) у сорту Federer схожість становила 53,5 %, а у сорту Кірена – 50,7 %. Низькі значення польової схожості після обробки мутагенами у концентрації 0,05 % вказують на те, що максимальні дози, які використовували у дослідях, є напівлетальними для озимої пшениці. Спостерігали деякі відмінності у реакції сортів на дію стереоізомерів, сорт Federer за польовою схожістю насіння виявився більш стійким, ніж сорт Кірена.

Таблиця 1. Польова схожість насіння та виживання рослин M_1 озимої пшениці за дії мутагенів

Мутаген, концентрація, %	Польова схожість, %		Вживання в зимовий період, %	
	сорт Federer	сорт Кірена	сорт Federer	сорт Кірена
Контроль (вода)	94,4±0,73	96,2±0,60	84,6±1,17	91,3±0,91
ГП 100 Гр	79,4±0,1*	80,0±1,26*	59,4±1,55*	79,2±1,28*
НЕС 0,0125	77,2±1,38*	78,0±0,1*	62,6±1,53*	52,2±1,58*^
НЕС 0,025	74,3±1,32*	73,1±0,2*	60,3±1,55*	47,8±1,58*
R(-) НМвБС 0,005	90,3±0,94*^	95,8±0,63^	73,1±1,48*^	84,2±1,18*^
R(-) НМвБС 0,01	78,6±1,30*^	76,3±1,34*^	67,4±1,67*^	72,7±1,61*^
R(-) НМвБС 0,03	77,1±1,33*	74,5±1,38*	64,7±1,72*	70,4±1,67*
R(-) НМвБС 0,05	55,7±1,57*^	51,1±1,58*^	48,3±2,12*^	49,8±2,21*^
S(+) НМвБС 0,005	86,4±1,08*^	81,6±1,23*^	71,8±1,53*^	82,1±1,34*^
S(+) НМвБС 0,01	74,8±1,37*^	63,3±1,52*^	62,6±1,77*^	70,4±1,81*^
S(+) НМвБС 0,03	74,1±1,39*	62,7±1,57*	61,2±1,79*	68,7±1,98*
S(+) НМвБС 0,05	53,5±1,58*^	50,7±1,58*^	45,1±2,15*^	47,3±2,22*^

Примітки: * – різниця достовірна за $P_{0,05}$ в порівнянні з контролем; ^ – різниця достовірна за $P_{0,05}$ в порівнянні з попереднім показником.

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

Дослідження частоти мутацій у M₂-M₃ засвідчило, що у третьому мутантному поколінні виділяється значна кількість рослин пшениці, які відрізняються за морфологічними ознаками та фізіологічними показниками від вихідних сортів. Аналіз мутантних форм виявив тенденцію до збільшення частоти мутацій при підвищенні

доз мутагенів. Так, із зростанням концентрації хіральних мутагенів збільшувалася частота мутацій: у сорту Federer від 3,2 % до 9 %, сорту Кірена – від 5 % до 12,6 % (табл. 2).

За дії хіральних R(-) НМвБС максимальна частота мутацій становила 10,2 %, це суттєво перевищило частоту мутацій, індукованих гамма-променями у дозі 100 Гр. Під впливом R(-) стереоізомеру в концентраціях 0,03 % та 0,05 % спостерігали мутації на рівні дії НЕС в оптимальних концентраціях. Це дає підставу стверджувати, що концентрації 0,03 % та 0,05 % R(-) НМвБС є оптимальними для індукування мутацій на озимій м'якій пшениці.

Таблиця 2. Частота видимих мутацій у сортів м'якої озимої пшениці в поколінні M₃

Мутаген, концентрація, %	Вивчено сімей	Сімей з мутаціями, %	
	шт.	Сорт Federer	Сорт Кірена
Контроль (вода)	500	0,4±0,28	0,8±0,4
ГП 100 Гр	500	4,2±0,9*	5,2±0,99*
НЕС 0,0125	500	5,4±1,01*	8,0±1,21*
НЕС 0,025	500	5,6±1,03*	7,8±1,2*
R(-) НМвБС 0,005	500	3,2±0,79*	5,0±0,97*
R(-) НМвБС 0,01	500	3,6±0,83*	5,4±1,01*
R(-) НМвБС 0,03	500	4,8±0,96*	10,2±1,35*‡
R(-) НМвБС 0,05	500	5,4±1,01*	9,2±1,29*‡
S(+) НМвБС 0,005	500	5,0±0,97*	5,0±0,97*
S(+) НМвБС 0,01	500	5,6±1,03*	9,0±1,28*‡
S(+) НМвБС 0,03	500	6,0±1,06*	9,2±1,29*‡
S(+) НМвБС 0,05	500	9,0±1,28*,‡,^,**	12,6±1,48*,‡,^

Примітки: * – різниця достовірна з 1 при P_{0,05}; ‡ – різниця достовірна з 2 при P_{0,05}; ^ – різниця достовірна з 3, 4 при P_{0,05}; ** – різниця достовірна з 5-8 при P_{0,05}.

За дії стереоізомеру S(+) НМвБС в максимальній концентрації (0,05 %) відмічено найбільшу частоту видимих мутацій (12,6 %), а також достовірне перевищення частоти мутантних сімей в порівнянні з дією ГП та НЕС на обох досліджуваних сортах пшениці. Дія S(+) в концен-

траціях 0,01 % та 0,03 % знаходилась на рівні супермутагену НЕС. Це дозволяє вважати концентрації 0,01 % та 0,03 % S(+) НМвБС оптимальними для індукування видимих мутацій у озимої пшениці.

Висновки

Таким чином, комплексний аналіз одержаних результатів по схожості насіння, виживанню в зимовий період і частоти видимих мутацій за дії стереоізомеру R(-), дає підставу вважати, що концентрації 0,03 % та 0,05 % є оптимальними для використання в мутаційній селекції.

За дії S(+) стереоізомеру оптимальними є

концентрації 0,01 % та 0,03 %. Концентрація 0,05 % S(+) стереоізомеру (за результатами польової схожості насіння та виживанням рослин) є напівлетальною, в той же час за її дії у обох досліджуваних сортів спостерігали найбільшу частоту видимих мутацій.

* Автори щиро вдячні завідувачу лабораторії стереохімії Інституту хімічної фізики ім. М.М. Семенова РАН д.х.н., проф. Р.Г. Костяновському за люб'язно надані хіральні стереоізомери нітрозометилвторбутилсечовини для досліджень згідно з договором про творчу співпрацю.

Література

1. FAO/IAEA Mutant Variety Database. – Режим доступу: <http://mvgs.iaea.org>.
2. Моргун В.В. Досягнення інституту фізіології рослин і генетики НАН України (до 65-ї річниці від дня заснування) // Физиология и биохимия культ. растений. – 2011. – 43, №3. – С. 187–211.
3. Hiroyoshi Omokawa, Jae Hwan Ryou. Enantioselective Response of Rice and Barnyard Millet on Root Growth Inhibition by Optically Active α -Methylbenzyl Phenylureas // Pesticide Biochemistry and Physiology. – 2001. – 70, №1. – Р. 1–6.
4. 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. – Р. 359-369.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высш. шк. 1990. – 352 с.
6. Мальченко В.В., Гуляев Г.В., Хотяновская Е.Б. Экспериментальный мутагенез озимой пшеницы. Действие химических мутагенов на M_1 и частота мутаций в M_2 // Генетика. – 1976. – Vol. 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 M_1 озимої пшениці та його зв'язок із частотою змінених форм у другому поколінні // Физиология и биохимия культ. растений. – 2010. – 42, №2. – С. 153–162.

KATERYNCHUK A.M., CHUGUNKOVA T.V.

*Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 31/17, e-mail: katerynchuks@mail.ru*

OPTIMAL DOSE CHIRAL MUTAGENS IN INDUCING VISIBLE MUTATIONS ON WINTER WHEAT

Aim. In order to expand the class of mutagens that would allow to obtain new mutant forms of crops, we investigated the optimal dose of chiral nitrosoalkylureas on winter wheat for the first time. **Methods.** We used standard methods of processing seed mutagens, field and laboratory methods for the analysis of plants in the generation of M_1 – M_3 , methods of statistical analysis. **Results.** The greatest number of mutations in both varieties was induced by the action of S (+) stereoisomer at a concentration of 0,05 %. The frequency of visible mutations in variety Federer ranged from 3,2 % to 9 %, in a variety of Kyrene – from 5 % to 12,6 %. **Conclusions.** As a result, the effect of chiral stereoisomers on winter wheat was studied. Found that stereoisomers R(-) and S(+) nitroso-*sec*-butyl-methylureas cause significant mutant changes in the varieties of wheat. The optimal and semi-lethal doses of chiral stereoisomers S(+)-NMsBU and R(-)-NMsBU for winter wheat seeds were first determined.

Key words: chiral nitrosoalkylureas, mutation frequency, optimal dose, common winter wheat.

КОВАЛЕВА Л.В., ЗАХАРОВА Е.В., ТИМОФЕЕВА Г.В., УСТИНОВА А.В., РАКИТИН В.Ю.

*Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева Российской академии наук
Россия, 127273, г. Москва, ул. Ботаническая, 35, e-mail: kovaleva_l@mail.ru*

ЭТИЛЕН В ПРОГАМНОЙ ФАЗЕ ОПОДОТВОРЕНИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ

В настоящее время накапливается все больше данных об участии этилена в регуляции репродуктивного процесса растений [1]. Показано, что трансгенные растения петунии со сниженной экспрессией гена PhEIN2 проявляли низкую чувствительность к этилену при старении цветков и созревании плодов, а сверхэкспрессия в трансгенных растениях табака гена Cm-

ETR1/H69A или Cm-ERS1/H70A индуцировала стерильность пыльцы или снижала ее фертильность [2]. Анализ профиля глобальной экспрессии генов в развивающемся пыльнике риса выявил наличие синтеза и сигналинга этилена в микроспорах, пыльцевых зернах и тапетуме, в частности выявил экспрессию АЦК-синтазы6(ACS6), АЦК-оксидазы2(ACO2) и

АЦК-оксидазы³ (АСО₃) на последних стадиях развития пыльцевого зерна [3]. Исследования, проведенные на орхидее, гвоздике, табаке и петунии, предполагают, что индуцированное опылением образование и выделение этилена тканями пестика необходимо для роста пыльцевых трубок и успешного оплодотворения [4–6]. Однако вопрос о физиологической роли этилена в гаметофитно-спорофитных взаимодействиях в прогамной фазе оплодотворения как при нормальном развитии репродуктивного процесса, так

Материалы и методы

Растительный материал. Вегетативно размноженные растения двух фертильных (самосовместимого и самонесовместимого) и стерильного клонов петунии (*Petunia hybrida* L.) выращивали в почвенной культуре при естественном освещении.

Самонесовместимый клон характеризуется тем, что при самоопылении его пыльца прорастает на рыльце, но рост пыльцевых трубок останавливается в проводниковых тканях столбика вследствие гаметофитной самонесовместимости. У стерильного клона микроспорогенез останавливается на стадии мейоза [7].

Стадии развития микроспор и пыльцевых зерен в развивающихся пыльниках определяли в соответствии с общепринятой классификацией. Пыльники окрашивали флуоресцентным красителем Hoechst 33258. Для определения каждой стадии использовали пыльники из 15 бутонов. Препараты анализировали под микроскопом Axio Imedger D1.

Обработку побегов с бутонами и прорастающую на среде культивирования пыльцу NBD проводили в 5-литровых стеклянных камерах при температуре 26°C и 16-часовом фотоперио-

Результаты и обсуждение

Образование этилена исследовали на девяти стадиях развития пыльника: стадия материнских клеток пыльцы, археспорий (А), мейоз (Ме), тетрады (Т), ранние микроспоры (РМ), поздние микроспоры (ПМ), митоз (Ми), ранние пыльцевые зерна (РПЗ), средние пыльцевые зерна (СПЗ), поздние пыльцевые зерна (ППЗ). Стадии определяли по экспериментально выявленной корреляции между длиной бутона и стадией развития мужского гаметофита [7].

Развитие мужской гаметофитной генерации – пыльцы полностью зависит от спорофитных тканей стенки пыльника, в котором осуществляется микроспорогенез, образуются и созревают пыльцевые зерна. Результаты настоящей

при наличии генетически детерминированных барьеров самооплодотворения, еще далек от своего решения.

Цель данной работы составило изучение образования и действия этилена в развивающихся пыльниках самосовместимого, стерильного и самонесовместимого клонов петунии, а также в *in vitro* прорастающем мужском гаметофите (на среде культивирования) и *in vivo* в системе пыльца-пестик.

де с интенсивностью освещения люминисцентными лампами ЛБ-8000 люкс. Ежедневные наблюдения за состоянием генеративных клеток в пыльниках, обработанных этиленом и NBD, проводили на Hoechst-окрашенных срезах с помощью микроскопа Axio Imedger D1.

Питательная среда для культивирования пыльцы включала 0.4 М сахарозу и 1.6 мМ борную кислоту. О степени прорастания судили по количеству проросших пыльцевых зерен, произвольно отобранных и наблюдаемых в четырех полях микроскопа (n=200). Длину пыльцевых трубок определяли с помощью микроскопа Axio Imedger D1 с камерой Axio Cam MRc. Измерения выполняли в программе Axio Vizion 4.5.

Выделение этилена определяли на газовом хроматографе с пламенно ионизационным детектором и концентрирующей системой для углеводородов [8].

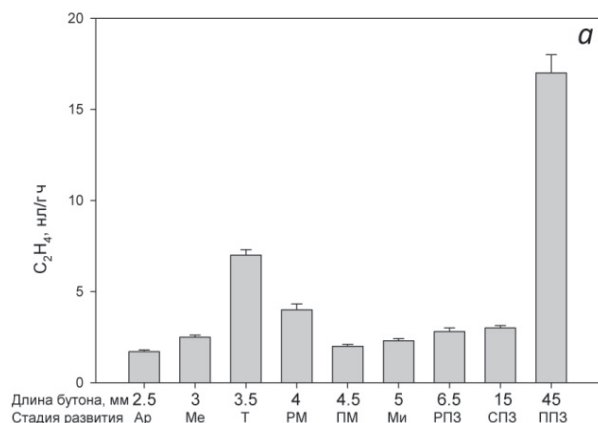
Статистическая обработка данных. Опыты проводили в трех-пяти биологических повторностях. Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента при степени свободы 0.05. На рисунках приведены средние значения и стандартные ошибки.

работы показали, что этилен необходим для ранних стадий микроспорогенеза. Развитие мужского гаметофита у фертильных клонов (самосовместимого и самонесовместимого) сопровождалось двумя периодами повышения образования этилена в тканях пыльника: первый происходил во время развития микроспор, второй – при созревании пыльцевых зерен (рис. 1, а). Динамика выделения этилена у обоих клонов была идентична.

Развитие микроспоры – наиболее длительный этап формирования пыльцевого зерна, в ходе которого микроспоры и стенка пыльника подвергаются структурным и функциональным изменениям. Разрушение тапетума происходило

по мере созревания микроспор и завершалось к моменту образования двуядерной пыльцы [7]. Полное разрушение тапетума происходило перед стадией РПЗ. Трехкратное повышение выделения этилена пыльниками, сопровождавшее развитие микроспор на стадии Т, по-видимому, и было причиной разрушения тапетума и средних слоев стенки пыльника. Для подтверждения этого предположения исследовали влияние различных концентраций ингибитора действия этилена NBD (500, 2000, 6000 мкл/л) на состояние пыльников в бутонах самосовместимого клона. Обработка бутонов петунии фертильного клона ингибитором синтеза этилена NBD на ранней стадии развития (до инициации Me) привела к полной остановке развития пыльника и мужского гаметофита и подтвердила это предположение.

Финальным этапом созревания пыльцы, без которого она практически утрачивает способность к прорастанию, является дегидратация пыльцы. Созревание и дегидратация пыльцевых зерен (стадия ППЗ) сопровождались значительным повышением содержания АЦК и выделения этилена (рис. 1, а). Повышение содержания АЦК в пыльниках на этой стадии сопряжено с ее накоплением в созревающих пыльцевых зернах. Значительное увеличение образования и, следовательно, содержания этилена, очевидно, запус-



кает в стенке пыльника механизмы программируемой клеточной смерти (ПКС), которая является частью нормального развития флоральных органов, включая завершающие стадии развития пыльника, приводящие к его растрескиванию и высвобождению пыльцы. Обработка бутонов петунии самосовместимого клона NBD в концентрации 6000 мкл/л предотвращала растрескивание пыльников.

У стерильного клона, разрушение тканей тапетума наблюдали очень рано, уже в профазе Me, одновременно с нарушениями в развитии спорогенной ткани. Гибель мужского гаметофита у стерильного клона происходила в профазе мейоза вследствие преждевременного разрушения тапетума. Гибель микроспороцитов сопровождалась плазмолизом тапетальных клеток. Гибель микроспороцитов и дегенерация клеток тапетума сопровождалась высоким уровнем выделения этилена на стадии материнских клеток пыльцы (рис. 1, б).

Высокие концентрации этилена (1–100 мкл/л) вызывали деградацию и гибель мужских генеративных клеток, находящихся в момент обработки на ранних стадиях развития, от начала Me до выхода микроспор из тетрад, так же, как это происходило при высоком уровне выделения и, следовательно, содержания эндогенного этилена у стерильного клона.

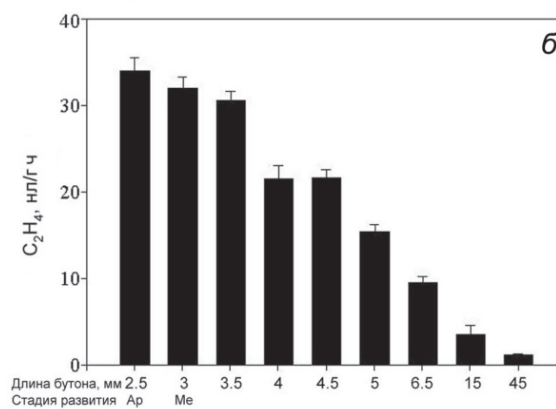


Рис. 1. Динамика и выделения этилена в развивающихся пыльниках петунии самосовместимого (а) и стерильного (б) клонов

Прорастающая *in vitro* пыльца практически сразу же после начала культивирования интенсивно выделяла этилен (рис. 2), возможно, за счет аккумулированной в пыльцевых зернах АЦК.

Ранее было показано, что опыление вызывает усиление выделения этилена тканями пестика [4–6]. В этой работе исследовали динамику выделения этилена после самоопыления самосовместимого и самонесовместимого клонов.

Полученные результаты свидетельствуют, что синтез этилена сопровождается прорастанием и рост совместимых и несовместимых пыльцевых трубок в тканях пестика. Рыльце является основным местом синтеза этилена после обоих типов опыления. Прорастание пыльцы и рост пыльцевых трубок после самонесовместимого опыления сопровождалось в 3 раза большим образованием этилена в системе мужской гаметофит – пестик, чем при самосовместимом опылении

(рис. 3). Полагаем, что этилен контролирует рост пыльцевых трубок, при этом повышенный уровень этилена связан с функционированием механизма гаметофитной самонесовместимости,

одного из основных барьеров самооплодотворения, вследствие которого рост пыльцевых трубок останавливается в проводниковых тканях столбика.

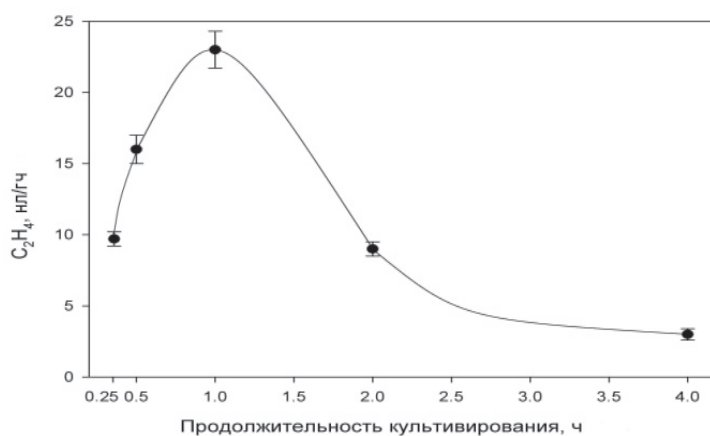


Рис. 2. Выделение этилена *in vitro* прорастающим мужским гаметофитом петунии самосовместимого клона

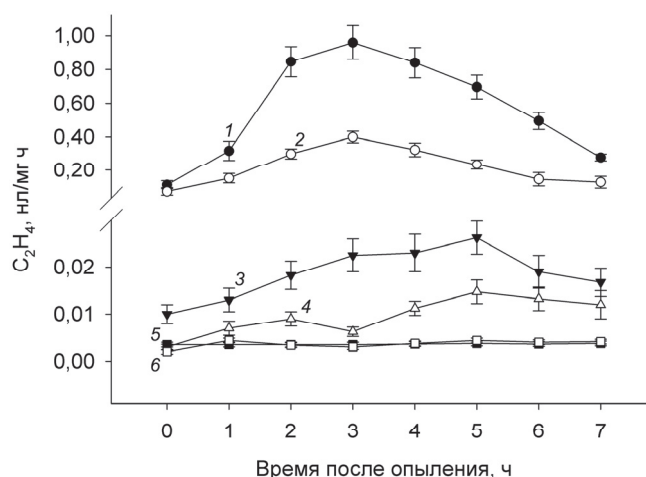


Рис. 3. Выделение этилена рыльцами (1, 2), столбиками (3, 4) и завязями (5, 6) петунии после самоопыления самосовместимого (светлые символы) и самонесовместимого (чёрные символы) клонов

Выводы

Полученные данные показали, что этилен участвует в регуляции гаметофитно-спорофитных отношений на всех этапах прогамной фазы оплодотворения у петунии. Изменение этой регуляции на генетическом уровне у стерильного и самонесовместимого клонов или

экзогенным этиленом и ингибитором его действия NBD у самосовместимого клона приводили к нарушению гаметофитно-спорофитных взаимодействий и в конечном итоге к блокированию оплодотворения.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (гранты № 06-04-48870 и № 10-04-00356).

Литература

1. Lin Z., Zhon S., Grierson D. Recent advances in ethylene research // J. Exp. Bot. – 2009. – V. 60. – P. 3311–3336.
1. 2.Ishimaru K., Takada K., Watanabe S. et al. Stable male sterility induced by the expression of mutated melon ethylene receptor genes in *Nicotiana tabacum* // Plant Sci. – 2006. – Vol. 3. – P. 355–359.
2. Hirano K., Aya K., Hobo T. et al. Comprehensive transcriptome analysis of phytohormone biosynthesis and

- signaling genes in microspore/pollen and tapetum of rice // *Plant Cell Physiol.* – 2008. – Vol. 49. – P. 1429–1450.
3. Singh A., Evensen K.B., Kao T-h. Ethylene synthesis and floral senescence following compatible and incompatible pollinations in *Petunia inflata* // *Plant Physiol.* – 1992. – Vol. 99. – P. 38–45.
 4. Tang X., Woodson W.R. Temporal and spatial expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase mRNA following pollination of immature and mature petunia flowers // *Plant Physiol.* – 1996. – Vol. 112. – P. 503–511.
 5. Kovaleva L., Zakharova E. Hormonal status of the pollen-pistil system at the progamic phase of fertilization after compatible and incompatible pollination in *Petunia hybrida* L. // *Sex. Plant Reprod.* – 2003. – Vol. 16. – P. 191–196.
 6. Добровольская А.А., Родионова Г.Б., Ковалева Л.В. Спорофито-гаметофитные взаимодействия в системе пыльник-мужской гаметофит у петунии // *Физиология растений.* – 2009. – Т. 56. – С. 437–444.
 7. Ракитин В.Ю., Ракитин Л.В. Определение газообмена и содержание этилена, двуокиси и кислорода в тканях растений // *Физиология растений.* – 1986. – Т. 33. – С. 403–413.

KOVALEVA L.V., ZAKHAROVA E.V., TIMOFEEVA G.V., USTINOVA A., RAKITIN V.Yu.

Institute of Plant Physiology RAS

Russia, 127273, Moscow, Botanicheskaya str., 35, e-mail: kovaleva_l@mail.ru

ETHYLENE IS INVOLVED IN THE CONTROL OF GAMETOPHYTE-SPOROPHYTE INTERACTIONS AT PROGAMIC PHASE OF FERTILISATION

Aims. Physiological role of ethylene in the gametophyte-sporophyte interactions remains unknown.

Methods. The ethylene production in the course of male gametophyte development and germination, in vitro and in vivo, in petunia fertile (self-compatible and self-incompatible) and sterile clones was investigated.

Results. Fertile male gametophyte development was accompanied by two peaks of ethylene production by anther tissues during microspore development and pollen grain maturation. In sterile line, tenfold higher ethylene production was observed at the meiosis stage and correlated with degeneration of both microsporocytes and tapetum. The male gametophyte germination, both in vitro and in vivo, was accompanied by an increase in ethylene production. The male gametophyte germination after self-incompatible pollination was accompanied by a higher level of ethylene production as compared to compatible pollination. **Conclusions.** These results suggest that ethylene is an important factor of male gametophyte development, germination, and growth at the progamic phase of fertilization.

Key words: *Petunia hybrida*, ethylene, male gametophyte, sterility, self-incompatibility.

КОЗАЧЕНКО М.Р., СОЛОНЕЧНИЙ П.М.

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

Україна, 61060, м. Харків, пр. Московський, 142, e-mail: yuriev1908@gmail.com

ГЕНЕТИЧНІ ОСНОВИ СЕЛЕКЦІЇ НА РОЗШИРЕННЯ РІЗНОВИДНІСНОГО РІЗНОМАНІТТЯ ЯЧМЕНЮ ЯРОГО

У Державному Реєстрі сортів рослин, придатних для поширення в Україні, є сорти ячменю лише шести різновидностей: *nutans Sch?bl.*, *medicum Koern.*, *submedicum Orl.*, *pallidum Ser.*, *rikotense Regel.*, *deficiens (Steud.) Koern* [1]. Використання інших різновидностей в селекції ячменю є недостатнім.

Недостатньо досліджено і використано в селекції джерела короткоостоті, безостоті, фуркатності, голозерності, багатовузлості, якими є колекційні форми і одержані на різних сортах мутанти, а також нові сорти ячменю ярого інших різновидностей. Не досліджено селекційно-генетичні особливості та закономірності мінливості ознак таких форм ячменю. Не визначено

кореляцію між кількісними ознаками у нових форм різних різновидностей. Важливо також встановити ефективність використання нових різновиднісних джерел в селекції ячменю ярого. Вирішення вказаних задач і стало підставою для проведення досліджень етичних основ селекції на розширення різновиднісного різноманіття ячменю ярого.

Метою досліджень було встановлення морфо-біологічних і селекційно-генетичних особливостей ознак і ефективності використання рідкісних мутантних і різновиднісних форм в селекції ячменю ярого та створення на цій основі селекційно цінного вихідного матеріалу.

Матеріали і методи

1) спеціальні – польові (гібридизація, фенологія, опис і оцінка ознак рослин) для одержання експериментального матеріалу, лабораторні (добір, оцінка, структурний аналіз рослин) для визначення елементів продуктивності рослин, зв'язків між ними та виділення цінних форм;

2) генетико-статистичні – дисперсійний, варіаційний, генетичний, кореляційний – для визначення закономірностей прояву ознак і достовірності одержаних результатів, характеру мінливості, генетичних особливостей та успадкованості кількісних ознак;

Результати та обговорення

Уперше в Україні встановлено відмінності за морфо-біологічними особливостями і мінливістю кількісних ознак та порівняльною селекційною цінністю 20 мутантних і різних різновидних форм ячменю ярого, які мають мутації волосоподібної короткоостості і восьмивузлості та ознаки восьми маловикористовуваних (*inermis* Koern., *capillaceae* Kozacz., *nudideficiens* Koern., *horsfordianum* Wittm., *coeleste* L., *rikotense* Regel., *pallidum* Ser., *submedicum* Orl.) і двох широковикористовуваних (*nutans* Sch?bl., *medicum* Koern.) в селекції різновидностей, в залежності від генотипу та умов вирощування, що забезпечує ефективність їх використання в рекомбінаційній селекції.

Визначено, що за більшістю кількісних ознак високі рівні їх показників мали досліджені сорти різновидностей *nutans* (Токادا, Джерело, Галактик, Гетьман), *medicum* (Фенікс), *submedicum* (Етикет), *rikotense* (Вакула).

Встановлено кореляцію основних селекційних ознак в 2007–2009 рр., зокрема позитивну між продуктивністю рослин та масою зерна колосу ($r=0,53-0,77$), масою 1000 зерен ($r=0,53-0,67$), за два роки – з продуктивною кущистістю ($r=0,73-0,76$), співвідношенням мас зерна і соломи ($r=0,71-0,83$).

Встановлено особливості успадкування ознак досліджених форм в F_1 з виявленням різного прояву якісних морфологічних ознак при успадкуванні в залежності від генотипу форм, зокрема фуркатності при домінуванні над остистістю (з розвитком ніжок чи без них), над безостистістю (з можливим розвитком короткоостості чи безостості в окремих зернах) і короткоостистістю, встановлено домінування 4-вузлості над 8-вузлістю соломини, при домінуванні фуркатності у дворядних F_1 фурки розвиваються лише на зернах.

Досліджували F_1 і F_2 гібридних популяцій, одержаних за двома діалельними схемами схрещувань (прямі з батьками) (В. Griffing, 1956 р.) [2].

Встановлювали селекційно-генетичні особливості досліджених форм за рівнем і співвідношенням загальної (ЗКЗ) і специфічної (СКЗ) комбінаційної здатності, компонентами генетичної дисперсії, а також успадкованістю в широкому (H^2) і вузькому (h^2) розумінні ознак продуктивності та її структурних елементів і інших ознак рослин генетичним аналізом за М. А. Фединим (1980) [3] і Б. А. Доспеховим [4].

Встановлено селекційно-генетичні особливості 20 досліджених форм різних різновидностей за компонентами генетичної дисперсії, комбінаційною здатністю та успадкованістю кількісних ознак в F_1 гібридів, одержаних в повних прямих діалельних схрещуваннях (табл. 1).

Показано, що кількісні ознаки в цілому в досліді детермінуються, в основному, неадитивними (домінантними) ефектами генів, так як компоненти H_1 і H_2 доміантних ефектів генів значно більші за компонент D адитивних ефектів генів, середній ступінь домінування (H_1/D) і його міра ($\sqrt{H_1/D}$) більші одиниці, що вказує на наддомінування, а компонент F відносної частоти розподілу доміантних і рецесивних алелів має позитивне значення, а також за значною різницею в рівнях і співвідношеннях коефіцієнтів їх успадкованості в широкому (H^2) і вузькому (h^2) розумінні.

Виявлено, що досліджені форми за певними ознаками можуть мати переважання або неадитивних (при позитивному значенні компоненту F), або адитивних (при негативному значенні компоненту F) ефектів генів, а також при відповідно значній чи меншій різниці в рівнях коефіцієнтів H^2 і h^2 , чим і забезпечується ефективність добору за ними.

Визначено особливості 20 форм різних різновидностей за неоднаковим рівнем і співвідношенням ефектів загальної (ЗКЗ) та констант і ефектів специфічної (СКЗ) комбінаційної здатності за кількісними ознаками рослин в F_1 в середньому по всіх комбінаціях схрещування. Відмічено порівняно більшу кількість ознак з високою ЗКЗ, а значить і більшу кількість алелів генів, які позитивно визначають їх показники, у дворядних остистих сортів різновидностей *nutans*, *medicum* і *submedicum*, а з низькою ЗКЗ у досліджених форм голозерних, короткоостих,

фуркатних і багаторядних різновидностей які доцільно схрещувати з формами з високою ЗКЗ.

Встановлено ефективність використання в селекції методом гібридизації форм маловикористовуваних різновидностей ячменю ярого для розширення генетичного різноманіття і створення нового вихідного матеріалу з комбінацією

цінних селекційних ознак.

Встановлення морфо-біологічних та селекційно-генетичних особливостей досліджених різновиднісних форм забезпечує ефективність їх використання в селекційних програмах ячменю ярого.

Таблиця 1. Компоненти генетичної дисперсії досліджених форм за кількісними ознаками F₁ гібридів в цілому в досліді №1

Компоненти дисперсії	Рік	Висота рослини	Продуктивна кущистість	Ознака основного колосу				Маса 1000 зерен	Маса зерна з рослини
				довжина	щільність	кількість зерен	маса зерна		
D	2007	79,0	0,49	3,19	0,63	18,04	0,07	104,8	0,92
	2008	83,3	0,46	1,24	0,34	122,24	0,09	41,0	0,43
	2009	24,7	0,21	1,36	0,51	95,36	0,12	65,5	0,26
F	2007	86,9	0,27	3,14	0,64	20,91	0,05	50,9	0,60
	2008	38,5	0,24	-0,04	0,44	164,97	0,12	27,0	-0,65
	2009	3,5	0,16	0,40	0,68	129,75	0,14	74,9	0,20
H ₁	2007	121,0	1,74	5,82	1,20	24,27	0,14	164,2	2,02
	2008	137,5	0,51	6,26	1,51	149,29	0,66	33,1	6,07
	2009	18,6	0,32	1,90	1,07	112,50	0,19	68,8	0,50
H ₂	2007	90,1	1,59	4,29	1,00	85,69	0,12	152,3	1,77
	2008	122,6	0,40	5,29	1,13	86,50	0,46	24,7	5,05
	2009	15,3	0,26	1,64	0,78	66,66	0,14	45,4	0,43
H ₁ /D	2007	1,54	3,52	1,82	1,92	5,23	2,09	1,57	2,20
	2008	1,65	1,11	5,04	4,39	1,33	7,04	0,81	13,97
	2009	0,75	1,53	1,40	2,09	1,18	1,57	1,07	1,92
√H ₁ /D	2007	1,24	1,88	1,35	1,38	2,29	1,45	1,25	1,48
	2008	1,29	1,05	2,25	2,09	1,15	2,65	0,90	3,74
	2009	0,87	1,24	1,18	1,45	1,09	1,25	1,03	1,39

Виділено сім сортів (Tokada, Джерело, Галактик і Гетьман var. *nutans*, Фенікс var. *medicum*, Етикет var. *submedicum*, Вакула var. *rikotense*) як джерела цінних ознак різновиднісних для практичної селекції. Створено і відібрано для використання в селекції 987 (800 в CP₁, 151 в CP₂ і 36 в KP) нових селекційно цінних ліній різних різновидностей ячменю ярого з комбінацією господарсько цінних ознак, які збагачують генетичне різноманіття ячменю ярого. Виділено 20 ліній з високою продуктивністю рослин і 21 лінію з високою урожайністю (табл. 2).

Одержані лінії використано методом гіб-

ридізації в селекції ячменю ярого в Інституті рослинництва ім. В. Я. Юр'єва НААН у 2010-2011 рр. У 2011 р. одержано гібридне насіння першого покоління та F₁.

54 створених ліній з різними різновиднісними ознаками і 17 нових ліній з селекційно цінними ознаками передано в 2010 р. до Національного центру генетичних ресурсів рослин України (НЦГРРУ).

Одержано свідоцтва НЦГРРУ про реєстрацію зразка генофонду рослин в Україні на 5 ліній: (08-1078 (№ 834), 08-1183 (№ 835), 08-1199 (№ 836), 08-1709 (№ 837), 08-1716 (№ 838))

Таблиця 2. Характеристика кращих ліній за господарські цінними ознаками в контрольному розсаднику

Лінія	Різнovid-ність	Родовід		Урожайність								Вегетацій-ний період, діб	Стійкість до вилягання, бал
		♀	♂	2010 р.		2011 р.		Середня					
				т/га	% до стан даргу	т/га	% до стан даргу	т/га	% до стан дарту				
Командор, стандарт	<i>nitans</i>	–	–	–	100	–	100	–	–	100	–	77	8,2
08-87	<i>inerte</i>	Адапт	Гранал	2,76	107*	4,58	108*	3,67	107,5	–	72	8,7	
08-696	<i>nitans</i>	К. о. із X-91	Звершення	3,36	110*	4,87	111*	4,11	110,5	–	77	8,7	
08-1010	<i>nitans</i>	Гетьман	Джерело	3,24	106*	4,70	108*	3,97	107,0	–	78	8,7	
08-1198	короткооста багаторядна	К. о. із X-84	Вакула	3,55	108*	4,74	111*	4,14	109,5	–	75	9,0	
08-1486	<i>pallidum</i>	IR 6576	Джерело	3,51	108*	4,95	109*	4,23	108,5	–	73	9,0	
08-1703	<i>nitans</i>	Scarlet	IR 6569	3,12	111*	5,12	113*	4,12	112,0	–	77	8,7	
08-1708	безоста вось-мивузла	Гранал	8-вузлий зазуб-лений	2,95	106*	4,21	110*	3,58	108,0	–	78	9,0	
08-1850	<i>pallidum</i>	Джерело	Вакула	3,00	115*	5,26	117*	4,13	116,0	–	77	8,7	
08-1903	<i>nitans</i>	IR 6586	Бадьорий	2,20	107*	4,20	109*	3,20	108,0	–	78	8,7	
08-2007	<i>nidum</i>	IR 6898	Галактик	2,14	106*	4,62	107*	3,38	105,5	–	77	9,0	
08-2447	<i>pallidum</i>	Залік	IR 6586	2,36	106*	4,09	108*	3,22	107,0	–	78	9,0	
НП ₀₅	–	–	–	–	5,5	–	6,7	–	–	–	–	–	

Примітка. * – Достовірність різниці з стандартом на 5 % рівні значущості

Висновки

Встановлено селекційно-генетичні особливості та створено нове генетичне різноманіття різновиднісних форм як вихідного матеріалу ячменю ярого. Встановлено морфологічні особливості, пластичність, варіабельність і кореляції кількісних та успадкування морфологічних якісних ознак у форм різних різновидностей, особливості генетичної дисперсії, рівні і співвідношення успадкованості в широкому та вузькому розумінні і ефекти загальної та константи і

ефекти специфічної комбінаційної здатності морфологічних кількісних ознак в F1 гібридів від прямих діалельних схрещувань і використання їх для прогнозу цінних рекомбінацій, а також внаслідок розширення генетичного різноманіття різновиднісних форм. Встановлено закономірності і ефективність створення селекційно цінних ліній з комбінацією різновиднісних і кількісних ознак, що має важливе значення в селекції ячменя ярого.

Література

1. Державний реєстр сортів рослин, придатних для поширення в Україні у 2009 р. – К.: Алефа, 2009. – С. 1–30.
2. Griffing В.А. general treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. – *Heredity*. – 1956. – Vol. 10. – P. 31–50.
3. Федін М.Д., Силис Д.Я., Смирязев А.В. Статистические методы генетического анализа. – М.: Колос, – 1980. – 207 с.
4. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). Изд. пятое, дополненное и переработанное. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

KOZACHENKO M.R., SOLONECHNYI P.M.

Plant Production institute nd. a V.Ya. Yuryev of NAAS

Ukraine, 61060, Kharkiv, Moskovskyi aven., 142, e-mail: yuriev1908@gmail.com

GENETICAL BASIS FOR BREEDING AS TO WIDENING OF A VARIETAL DIVERSITY IN SPRING BARLEY

Aims. The establishment of genetical peculiarities and efficiency of the application of the traits in rare variatal forms during breeding and widening of a variatal diversity in spring barley on its basis. **Methods.** Genetical-breeding methods are used: they are field (diallel crossing, phenology, heretability of plant traits); genetical-statistical (dispersion, variegated, correlation, genetical). **Results.** Some distinctions as to morphobiological peculiarities, variability, correlation, inheritance, components of genetical dispersion, heritability, combining ability and a breeding value of traits in the forms of rarely- and widely used varieties of spring barley are established. The variatal diversity of the sources of valuable traits is widened. **Conclusions.** The genetical peculiarities for the creation of a new genetical diversity of various variatal forms of spring barley are established.

Key words: spring barley, variety, diallel crosses, genetical specific, breeding.

КОРНЄЄВА М.О., НЕНЬКА О.В.

Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків

Україна, 03141, м. Київ, вул. Клінічна, 25, e-mail: mira31@ukr.net, nenka88@i.ua

ВИКОРИСТАННЯ ДІАЛЕЛЬНИХ СХРЕЩУВАНЬ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНОЇ ОЦІНКИ УРОЖАЙНОСТІ ЗАПИЛЮВАЧІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ

Сучасні гібриди цукрових буряків на основі цитоплазматичної чоловічої стерильності спроможні давати у виробництві високий урожай – 40–50 т/га. Потенціал урожайності культури є досить високим, він оцінюється у 60–80 т/га [1]. Для стабільного відтворення гетерозису у кінцевих (товарних) ЧС-гібридів у схрещуван-

ня необхідно вводити батьківські компоненти з високою комбінаційною здатністю, яку виявляють у системах контрольованих схрещувань (полікрос, топкрос, діалельні схрещування) [2, 3].

У сучасному генетичному аналізі кількісних ознак найінформативнішим є метод діале-

льних схрещувань, який дозволяє виявити генетичні параметри досліджуваних ліній: варіювання домінантних і адитивних ефектів генів, наявність неалельної взаємодії, загальну і відносну домінантність, а також визначити комбінаційну здатність, реципрокні ефекти, кількість генів або груп генів, що контролюють ознаку [4].

При використанні даного методу необхідно зважати на деякі обмеження, зокрема, такі:

Матеріали і методи

Дослідження проводили на Уманській дослідно-селекційній станції Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН у 2011–2012 рр. До дослідження було залучено 6 ліній багатонасінних запилювачів, що відрізнялися походженням: БЗ 1, БЗ 2 (Верхнячка), БЗ 3, БЗ 4,

Результати та обговорення

На рис. 1 наведена врожайність ліній-запилювачів і середні показники міжлінійних гібридів, створених на основі кожної із них. Як показав аналіз, міжлінійні гібриди за участю запилювачів БЗ 2 та БЗ 3 у результаті гібридизації (у середньому) не підвищили врожайність, яка становила відповідно 39,8 і 39,6 т/га та 40,2 і 40,8 т/га. Проте за участю ліній БЗ 2 та БЗ 4 була отримана високоврожайна гібридна комбінація (44,2 т/га), а за участю ліній БЗ 3 та БЗ 6 – гібрид з високим показником цієї ознаки (47,4 т/га).

відсутність порушень у мейозі, незалежна дія неалельних генів, відсутність множинного алелізму, гомозиготність батьківських форм, незалежний розподіл генів у компонентів гібридизації [5].

Метою нашої роботи було визначити комбінаційну здатність досліджуваних запилювачів та виявити генетичний контроль ознаки врожайності у міжлінійних гібридів цукрових буряків.

БЗ 5 (Умань) та БЗ 6 (Рамонь). Вихідний матеріал був гомозиготним внаслідок самозапилення, близько родинного розмноження і тривалого селекційного опрацювання, проведеного на станції.

Міжлінійні діалельні гібриди за участю решти ліній-запилювачів характеризувалися позитивною реакцією на гібридизацію, оскільки всі вони достовірно перевищували врожайність запилювачів “у чистоті”. У запилювача БЗ 1 врожайність становила 39,3 т/га, а у гібридів, створених на основі цих ліній вона збільшилась на 5,6 т/га і становила 44,9 т/га. Ця різниця була найбільшою у досліджуваному наборі селекційних матеріалів.

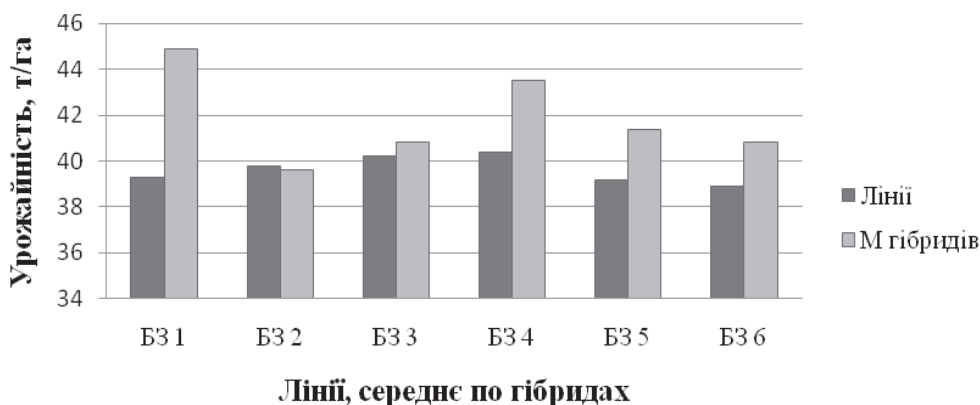


Рис. 1. Урожайність ліній-запилювачів цукрових буряків і діалельних гібридів (середні показники), 2011–2012 рр.

Причиною такої неоднозначної реакції на гібридизацію (за діалельною схемою) є різна комбінаційна здатність компонентів, яка виражається через ефекти адитивної (ЗКЗ) і неадитивної (СКЗ) дії генів. Проте тільки у діалельних гібридів можна виявити і реципрокні ефекти, що дозволяє більш точно в'яснити генетичну при-

роду гетерозису і цілеспрямовано підбирати батьківські пари для формування високоврожайних гібридів.

Кращими лініями за урожайністю визнано лінії БЗ 1 та БЗ 4, у яких ефекти ЗКЗ були високо достовірними – +1,07* та 1,31* (рис. 2). У гібридів, створених на основі цих ліній, адитив-

ні ефекти генів є переважаючими у формуванні гетерозису. Проте, як відомо, у детермінації будь-якої кількісної ознаки, у т.ч. урожайності,

беруть участь крім адитивних ефектів, неадитивні і реципрокні ефекти компонентів, які можуть підвищувати або знижувати ознаку у гібриді.

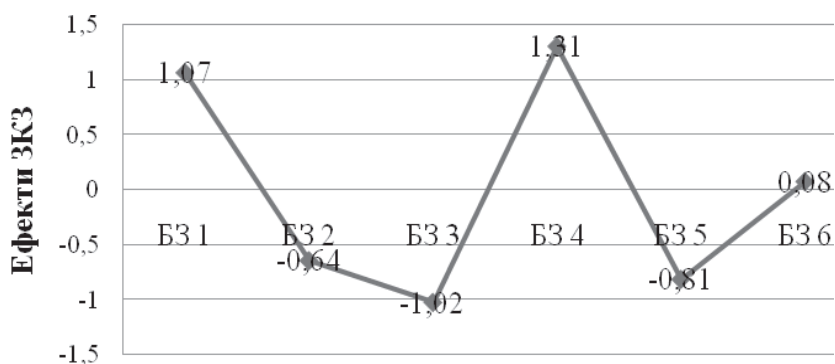


Рис. 2. Ефекти ЗКЗ багатонасінних запилювачів цукрових буряків, 2011–2012 рр.

Істотний внесок у формування високих позитивних неадитивних ефектів генів урожайності внесли компоненти БЗ 2 і БЗ 1, БЗ 5 і БЗ 1, БЗ 2 і БЗ 4, БЗ 6 і БЗ 4. Прояву гетерозису сприяли також позитивні реципрокні ефекти гібрид-

них комбінацій БЗ 2/БЗ 1, БЗ 3/БЗ 1 БЗ 3/БЗ 4 БЗ 3/БЗ 5 та БЗ 4/БЗ 5. Сумарне вираження всіх позитивних ефектів дій і взаємодій генів сприяли формуванню гетерозису у гібридів F₁ (табл. 1).

Таблиця 1. Ефекти специфічної комбінаційної здатності ліній і реципрокні ефекти гібридів цукрових буряків, одержаних за діалельною схемою, 2011–2012 рр.

Лінії	БЗ 1	БЗ 2	БЗ 3	БЗ 4	БЗ 5	БЗ 6
БЗ 1	#	2,08*	-0,84	-0,06	1,67*	2,47*
		2,40*	3,20*	-0,13	-3,25	-0,25
БЗ 2	0,97	#	-0,51	-0,40	0,26	1,55*
	-1,13		-2,13	-2,50	-2,88	-1,50
БЗ 3	1,07	3,03*	#	2,88*	-2,26*	1,78*
	-1,88	-2,13		0,38	0,13	2,50
БЗ 4	-0,06	-0,40	2,88*	#	3,86*	-2,35*
	-0,13	-2,50	0,38		3,38	4,00
БЗ 5	1,67*	0,26	3,86*	1,51*	#	1,51*
	-3,25	-2,88	0,13	3,38		0,88
БЗ 6	2,47*	1,55*	1,78*	-2,35*	1,51*	#
	0,25	-1,50	2,50	4,00	0,88	

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

У досліджуваному наборі гібридів на основі шести ліній запилювачів методом дисперсійного аналізу встановили внесок кожного із типів генних взаємодій. Найбільша частка генотипової дисперсії припадала на адитивні ефекти

– 39,8 %. Реципрокні ефекти генів були дещо меншими – 36,4 %, а неадитивні ефекти генів у генотиповій мінливості ознаки урожайності становили 23,8 % (рис. 3).



Рис. 3. Структура генотипової мінливості урожайності діалельних гібридів цукрових буряків, 2011-2012 рр.

Метод діалельних схрещувань дозволяє виявити також і компоненти генетичної дисперсії, на основі яких встановлюють параметри генотипової мінливості полігенно контрольованих ознак. Так, загальна ступінь домінантності визначена як відношення H_1/D , тобто домінантно-

го ефекту до складової варіації, обумовленої адитивними ефектами генів, становила менше одного, тобто мало місце повне домінування. Це також підтверджується і на графіку регресії, оскільки лінія регресії перетинає вісь W_i нижче нуля (рис. 4).

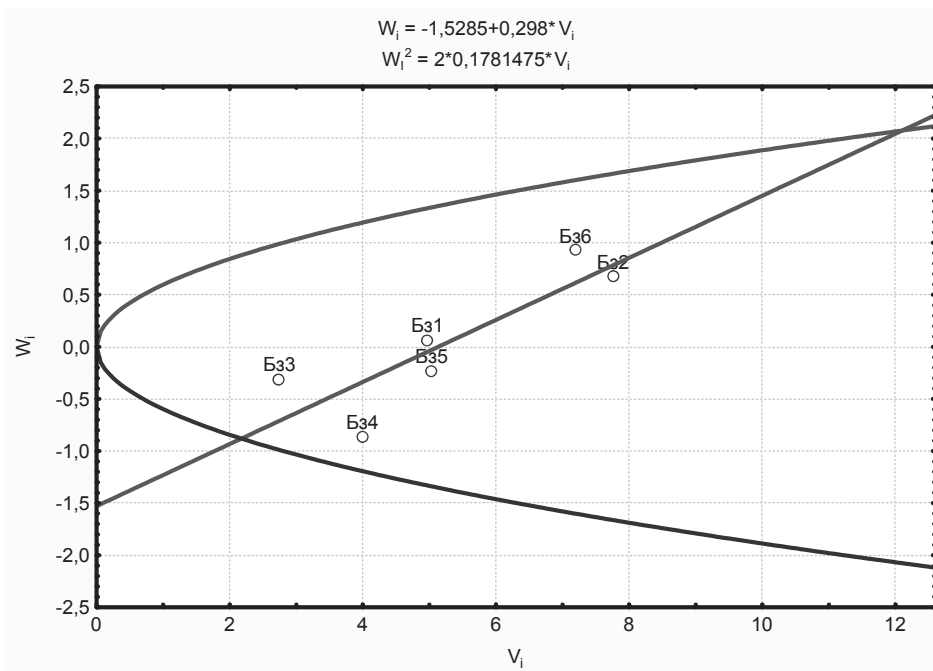


Рис. 4. Графік регресії W_i на V_i (графік Хеймана) для ознаки урожайності міжлінійних гібридів цукрових буряків, 2011–2012 рр.

На основі генетичного аналізу була встановлена також відносна частка домінантних і рецесивних генів, які контролюють ознаку у батьківських ліній. Лінії, які мають найбільшу кількість домінантних генів, знаходяться у нижньому лівому куті графіка (це лінії БЗ 3 і БЗ 4), а лінії з найбільшою кількістю рецесивних генів – у верхньому правому куті (БЗ 2 і БЗ 6). Визначено для кожної із 6 ліній напрям домінування. Якщо числове його вираження більше нуля, то це вказує на домінування у бік збільшення ознаки (БЗ 3 та БЗ 4). У решті ліній напрям доміну-

вання був менше нуля (від -2,0 до -8,2), що свідчить про домінування ознаки у бік зменшення. Виявили асиметрію у розподілі домінантних і рецесивних генів, оскільки отримане значення 0,18 суттєво відрізнялось від теоретичного 0,25.

Відношенням h^2/H_1 встановлено і кількість генів або груп генів, що зумовлюють ознаку урожайності у гібридів цукрових буряків. Їх виявилось 14, що свідчить про полігенний контроль урожайності і вказує на труднощі, пов'язані із селекцією ознаки, добором кращих ліній і формуванням високоврожайних гібридів

на їх основі.

Коефіцієнти успадкування у широкому сенсі становили $H^2=0,7$, у вузькому – $h^2=0,3$, тобто генетичне покращення ознаки можливе

Висновки

На основі генетичного аналізу ліній-запилювачів цукрових буряків встановлено генетичний контроль урожайності, який здійснюється 14 генами (або групами генів). Відібрано лінії з високою ЗКЗ (БЗ 1 та БЗ 4), які характеризувалися істотними адитивними ефектами генів. Виявлено реципрокні ефекти, ефекти СКЗ, які

ретельним підбором батьківських пар для гібридизації на основі прогнозування гетерозисного ефекту.

суттєво впливали на гетерозис гібридів, їх частка впливу становила відповідно 36,4 та 23,8 %. Відібрано високоврожайні гібридні комбінації, батьківські форми яких розмножено для їх відтворення і передачі в екологічне сортовипробування.

Література

1. Роїк М.В., Корнеєва М.О. Гібриди нового покоління буряку цукрового і їхня роль у процесі інтенсифікації галузі // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. № 3. – 2006. – С. 71–81.
2. Singh B.D. Chandhary Biometrical method in quantitative genetic analysis / B.D. Singh 1977, printed in India. – P. 179–185.
3. Griffing B.A. Generalised treatment of diallel crosses in quantitative inheritance / B.A. Griffing. – Heredity, 1956. – Vol. 31. – P. 45–48.
4. Hayman B.I. The theory and analysis of diallel crosses // Genetics. – 1954. – Vol. 10. – P. 47–51.
5. Генетический анализ количественных и качественных признаков с помощью математико-статистических методов / За ред. М.А. Федина, В.А. Драговцева – М.: ВНИИТЭИ сельхоз, 1973. – 113 с.

KORNEEVA M.O., NENKA O.V.

Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet

Ukraine, 03141, Kyiv, Klinichna str., 25, e-mail: mira31@ukr.net, nenka88@i.ua

USE DIALLEL CROSSES FOR BREEDING, GENETIC EVALUATION OF CROP YIELDS SUGAR BEET POLLINATORS

Aims. The aim of our study was to determine the combined ability of the studied pollinators and identify the genetic control of crop yield signs in interline hybrids of sugar beet. **Methods.** The source material was homozygous as a result self-pollination, reproduction and family about long breeding study conducted at the station. **Results.** Based on genetic analysis lines pollinators sugar beets found genetic control of crop yield, which is 14 genes (or groups of genes). Selected lines with high GCA (BZ 1 and BZ 4), which were characterized by significant additive effects of genes. Revealed reciprocal effects, the effects of the SCI, which greatly influenced the heterosis hybrids, their share of influence was respectively 36.4 and 23.8 %. Selected high-yielding hybrid combinations parental forms are propagated for their reproduction and transfer of environmental strain testing. **Conclusions.** Genetic control of crop yields 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.

Key words: general combinational ability, specific combinational ability, inheritance.

КОРНІЄНКО С.І., ГОРОВА Т.К.

Інститут овочівництва і багтанництва НААН

Україна, 62478, м. Мерефа, сел. Селекційне, вул. Інститутська, 1, e-mail: ovoch.iob@gmail.com

КОМБІНАТИВНА ВНУТРІШНЬОВИДОВА ГІБРИДИЗАЦІЯ В СЕЛЕКЦІЇ *BETA VULGARIS L.*

Буряк столовий за вмістом корисних компонентів займає ведуче місце серед овочевих рослин, особливо за лікувальними компонента-

ми бетаніном, ветаїном, вітаміном С та рослинним цукром. Отже, така культура є цінним актуальним об'єктом, як у науковому так і практич-

ному плані щодо збільшення її адаптивного потенціалу за продуктивністю, хімічним складом та розширення сортового конкурентоздатного

Матеріали і методи

Дослідження проводили у Лівобережній зоні Лісостепу України на селекційних сівозмінах Інституту овочівництва і баштанництва НААН (1974-2011 роки) за ранньовесняною сівбою, площа живлення у розсадниках 5-20 м², норма посіву 12 кг/га, відстань між рядками 45 і 70 см. Використано методичні нароби з питань

Результати та обговорення

В Інституті овочівництва і баштанництва НААН у колекції буряка за багаторічний період зібрано і вивчено понад 1600 зразків із 60 країн світу, що дозволило більш повно виявити спадковий поліморфізм, амплітуду варіювання ознак та виділено методом групового добору джерела для селекції:

- за урожайністю – Бордо 237 (Росія), Crosby Egyptian, Detroit2-Nero, New Globe Detroit Rubudus (Голландія), Detroit Dark Red (США), Suttony Globe (Англія), Little Ball (Нідерланди), Дій (Україна);
- за високою товарністю – Бордо харківський (Україна), Suttony Globe (Англія), Detroit Rubudus, Egyptian Crosby і Detroit2-Nero (Голландія), Небезіс Диганська (Грузія), Supreme (Греція), Egavo, Амер, Wodan, Pablo, Lunax, Action (Голландія), Карамзинова куля, Ранне чудо, Зміна, Делікатесний, Багрянний (Україна), Longe dicke (Канада), Кубанська борщова (Росія);
- за скоростиглістю – Носівський плескатий, Дій (Україна), Little Ball (Нідерланди), Lunax, Extra Early (Голландія);
- за вмістом основних компонентів хімічного складу – Багрянний, Сквирський дар, Лінія 38Д, Рось 34/36, Делікатесний (Україна), Бордо 237 (Росія), Холодостійка (Білорусь), Egavo, Detroit2-Nero (Голландія);
- за стійкістю до хвороб – Little Ball (Голландія), Дій, Багрянний (Україна), Бордо 237 (Росія).

В інституті розроблено прискорену методику оцінки похідних форм, враховуючи зональність країни. Якщо провести оцінку будь-якої похідної форми одночасно у трьох зонах, це відповідатиме трьохрічній оцінці в одній зоні. Її використання дозволяє скоротити оцінку на 2 роки та виявити стабільні джерела для селекції за один рік.

Доведено, що основним фундаментом си-

генофонду, що і обумовило наші теоретичні завдання.

овочівництва: «Методика дослідної справи в овочівництві», 2001 р. [1], «Сучасні методи селекції овочевих рослин», 2001 р. [2], Статистичні методи Б.А. Доспехова [3].

Головним нашим завданням було розробити прискорені методи селекції на основі модифікації сучасних і традиційних методик.

нтетичної селекції, що є чинником індукування мінливості від поєднання в одному генотипі декількох батьківських компонентів, є метод гібридизації, який об'єднує методичні системи, серед них найбільш доцільна для України – рекомбінатна, (комбінативна, внутрішньовидова).

В інституті розроблено скорочений спосіб селекційного процесу створення нових сортів на основі використання методів полікросу та подвійного бекросу сортів одного сорто типу. Новий спосіб застосували при створенні скоростиглого сорту буряку Дій. Від вільного перезаплення сортів голландської селекції Lухог, Boltardy, New globe, Little Boll сорто типу Бордо (concult. Bordo) отримали гібрид F₁, який бекросували з кожною з батьківських форм. Перший і другий гібриди теж бекросували з вихідними формами (схема 1). Спосіб дозволив поєднати у сорті Дій лежкість, продуктивність і стійкість до хвороб. Скоростиглий (період до пучкової стиглості 50–60 діб, технічної – 92–110 діб). Стійкий до білої та сірої гнилей. Зберігається до семи місяців. Шкірка темно-червона з фіолетовим відтінком. Висота коренеплоду – 6,2–8,9, діаметр – 8–10,3 см, індекс – 0,7–0,8. Заглибленість в ґрунт на 1/3. М'якуш темний, темно-червоний з фіолетовим відтінком та рожево-червоними кільцями, ніжний. Вміст сухої речовини – 11,6–14,5 %, цукру – 9–9,7 %, смакові якості 4,7–4,8 бала. Урожайність – до 51,1 т/га. Маса товарного коренеплоду – 380–440 г.

Прискорити селекційний процес буряку столового удвічі можна, скориставшись сучасними біотехнологічними методами культури in vitro для збільшення коефіцієнта розмноження дворічної культури та селективного фону, який на основі конкурентоздатності дозволяє прискорити гарантований добір. За модифікацією таких методів розроблено новий спосіб селекції, який апробовано при створенні пізньостиглого високобетанінового сорту буряку столового Багрянний.

Схема 1. Створення скоростиглих сортів буряку столового

Етапи	Роки	Розсадник	Отримана форма	Продукція
1	1	Добору	Вихідні форми	Коренеплоди
2	2	Гібридизації (полікрос)	Чотири сорти голландської селекції одного сортотипу (1x2x3x4)	Насіння F ₀
3	3-4	Гібридний F ₁	F ₁ (1x2x3x4)	Коренеплоди, насіння F ₁
4	5	Гібридизації (бекрос)	F ₁ (1x2x3x4) x (1x2x3x4)	Насіння
5	6-7	Гібридний F ₁	F ₁ [F ₁ (1x2x3x4) x (1x2x3x4)]	Коренеплоди, насіння F ₁
6	8	Гібридизації (бекрос)	F ₁ [F ₁ (1x2x3x4) x (1x2x3x4)] x F ₁ (1x2x3x4)	Насіння F ₁
7	9-10	Гібридний F ₁	F ₁ [F ₁ (1x2x3x4) x (1x2x3x4)] x F ₁ (1x2x3x4)	Коренеплоди, насіння F ₁
8	11-13	Сортовипробування	F ₁ {[F ₁ (1x2x3x4) x (1x2x3x4)] x F ₁ (1x2x3x4)}	Коренеплоди
9	13-14	Розмноження	Новий сорт Дій	Коренеплоди, насіння F ₁

Для створення сорту серед 150 зразків відібрано форми з низьким накопиченням нітратів та високим вмістом бетаніну – Хавська одноросткова і Кубанська борщова, від вільного переапилення сортів отримано гібрид F₁.

Методом індивідуального добору на селективних фонах з гібридної популяції щорічно добирали коренеплоди на типову форму, низький вміст нітратів та високий – бетаніну. Кращі індивідуальні добори для підвищення формоутворюючого процесу розмножували в культурі *in vitro*. Це дало змогу одержати насіння дворічної культури протягом року.

Висновки

Розроблено прискорені способи створення скоро- і пізньостиглих сортів буряку столового на основі модифікації традиційних методів полікросу, подвійного бекросування гібриду F₁, ку-

Сорт Багрянний придатний для механізованого збирання, стійкий до хвороб при тривалому зберіганні, вихід продукції – 90–95 %. Урожайність – 35–47 т/га. Коренеплід видовженоконічний з сильним збігом, гладенький, діаметром 10 см, масою 290–450 г, індекс форми – 2,0. Шкірка темно-червона. Головка середня, випукла. Денце овальне. Довжина головного корінця – 18 см. М'якуш яскраво-темно-бордовий. Серцевина без кілець. Вміст сухої речовини 20 %, загального цукру – 11,7 %, бетаніну – до 200 мг %. Смак 4,4–4,9 бала.

льтури *in vitro*. Нові способи апробовані при створенні конкурентоздатних сортів буряку столового Дій і Багрянний.

Література

1. Методика дослідної справи в овочівництві і баштанництві / [За ред. Г.Л. Бондаренка, К.І. Яковенка]. – Х. : Основа. – 2001. – 369 с.
2. Сучасні методи селекції овочевих і баштанних культур / [За ред. Т.К. Горової, К.І. Яковенка]. – Х., 2001. – 644 с.
3. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта / Б.А. Доспехов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.

KORNIENKO S.I., GOROVAYA T.K.

The Institute of Vegetables and Melons of the NAAS

Ukraine, 62478, Merefa, village Selektionnoye, Institutskaya str., 1, e-mail: ovojch.iob@gmail.com

COMBINATIVE INTRASPECIFIC HYBRIDIZATION IN BREEDING OF *BETA VULGARIS* L.

Aims. To speed up the selection process twice for the biennial of culture a table beet peony Eclipse already offered an effective scheme for new-maturing genotypes, which is already based on the open pollination (po-

likrose) adaptive four derivatives sources round peony Bordo bekrosirovanie derived from F₁ hybrid parent. **Methods.** Pollination of the hybrid, which has already received bekros F₁ hybrid with the previous F₁ has made it possible to get a generation that has ensured the standard uterine oval odnotipichnyh harvested roots to 98 % in variety Diy. **Results.** To speed up the selection of late-maturing varieties have a scheme that involves hybridization of derivative forms tapered and rounded. **Conclusions.** The selection on the selective background with F₁ hybrid uterine betanin's mather roots and propagation of in vitro culture has allowed for 12 years to reduce the creation of a new genotype varieties Bahriany.

Key words: hybridization, selection, table beet, polikrose, genotype.

КОРШИКОВ И.И., ДЕМКОВИЧ А.Е., МАКОГОН И.В., КАЛАФАТ Л.А., БАГДАСАРОВА А.Р.

Донецкий ботанический сад НАН Украины

Украина, 83059, Донецк-59, пр. Ильича, 110, e-mail: dbsgenetics@gmail.com

ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПЛЮСОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПО ИЗОФЕРМЕНТНЫМ И МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

Основным методом современной лесной селекции является плюсовая селекция, т.е. отбор растений по хозяйственно важным признакам, чаще всего – по скорости роста [5]. Однако мнение о плюсовой селекции неоднозначно. А.И. Видякин [2], проводивший анализ результатов плюсовой селекции *Pinus sylvestris* L., *Picea abies* (L.) Karst., *Picea obovata* Ledeb. и *P. x fennica* (Regel.) Kom. по семенному потомству в испытательных культурах Российской Федерации и республик бывшего СССР, отмечает, что большинство семей плюсовых деревьев сосны и ели не отличаются от контроля. Доля элитных плюсовых деревьев в этих культурах составляла 2–4 %. Это позволило автору сделать заключение, что отбор по лучшему фенотипу (высота дерева и диаметр его ствола) не эффективен. Этот селекционный метод в лесоведении рекомендуют применять только при выращивании промышленных плантаций [4]. Любой направленный отбор изменяет генетическую структуру и уровень генетической изменчивости, характерный для природных популяций селективируемого вида [15]. А поэтому проблема сохранения генетического разнообразия при создании объектов постоянной лесосеменной базы остается актуальной, хотя к такому заключению генетики и селекционеры пришли полвека назад [9]. По этой причине важной задачей лесоведения является генетический анализ лесных плюсовых деревьев с целью контроля дальнейшего их использования в создании объектов единого гене-

тико-селекционного комплекса. Такой комплекс планомерно создается селекционерами и генетиками в Беларуси [7] и России [8], не говоря о странах Западной Европы, где генетические маркеры – изоферменты и ДНК давно используются в исследованиях плюсовых деревьев. ДНК-маркеры часто оказываются селективно нейтральными, однако их применение в активно развивающемся новом направлении – популяционной геномике позволяет отличить общегеномные эффекты, затрагивающие все гены в геноме, от специфических эффектов, касающихся только отдельных генов [3].

Гетерозиготность живых организмов – одна из основных характеристик их изменчивости. Для оценки здоровья популяции гетерозиготность как совокупный молекулярный маркер наиболее подходит. Показатель гетерозиготности используют в мониторинге и в восстановительных программах популяционных систем. Повышение гетерозиготности увеличивает возможности для выживания популяций в последующих поколениях. Однако, для естественного воспроизводства популяций вида, как считает Ю.П. Алтухов [1], важным является сохранение определенного исторически сложившегося оптимума гетерозиготности, т.е. соотношения гомо- и гетерозигот.

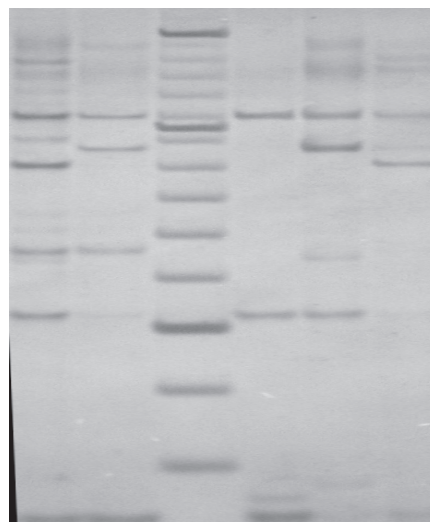
Цель работы – анализ индивидуальной гетерозиготности выборки плюсовых деревьев сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) из насаждений на севере Донецкой области.

Материалы и методы

В работе были использованы 35 плюсовых деревьев *P. sylvestris* из насаждений на севере Донецкой области. С каждого дерева отбирали почки и молодую хвою. Ферменты экстрагировали из листовых зачатков почек и проводили электрофорез в вертикальных пластинках 7,5 %-ного полиакриламидного геля. Этот анализ позволил идентифицировать 18 аллозимных локусов девяти ферментных систем: ADH (К.Ф. 1.1.1.1.), DIA (К.Ф. 1.8.1.4), GOT (К.Ф. 2.6.1.1), GDH (К.Ф. 1.4.1.2), LAP (К.Ф. 3.4.11.1), MDH (К.Ф. 1.1.1.37), SOD (К.Ф. 1.15.1.1), FDH (К.Ф. 1.2.1.2), ACP (К.Ф. 3.1.3.2).

ДНК выделяли с помощью набора «Diatom DNA prep» (Изоген). Наличие ДНК проверяли на агарозном гель-электрофорезе с окраской бромистым этидием. Микросателлитный анализ проводили на основе пяти пар праймеров, разработанных для *P. sylvestris*: Spac 11.8 [17], Ptx2146, Spac12.5, Ptx3025, Ptx3116 [12] («Metabion international» AG). Амплификацию SSR локусов выполняли с использованием наборов «GenePak PCR Core» (Изоген) на приборе «GeneAmp PCR System 2400» (Perkin Elmer). Концентрация праймеров составляла 0,1–0,5 мкм, вносили 20–200 нг исследуемой ДНК. Для электрофореза ампликона применяли неденатурирующий 6 % вертикальный полиакриламидный гель и трис-боратный электродный буфер [11]. Электрофорез проводили на геле

1,5*200*200 мм в камере «VE-3» (Helicon) при постоянном напряжении 300 В. Ампликоны окрашивали бромистым этидием [10] или нитратом серебра [11]. Для регистрации результатов использовали цифровой фотоаппарат «PoverShot a530» (Canon) (рис. 1).



М

Рис. 1. Электрофореграмма ампликонов по локусу Ptx2146, окрашенная азотнокислым серебром

Результаты и обсуждение

В исследованной выборке плюсовых деревьев *P. sylvestris* 14 локусов из 18 были полиморфными: Got-1 (1*), Got-2 (2), Got-3 (3), Gdh (4), Lap-1 (5), Lap-2 (6), Dia-1 (7), Dia-4 (8), Mdh-2 (9), Mdh-3 (10), Adh-1 (11), Adh-2 (12), Fdh (13), Acp (14) (табл.). Мультилокусный генотип одного из деревьев (№ 23) не имел ни одного гетерозиготного локуса. У семи деревьев выявлен только один гетерозиготный локус: у трех пар генотипов эти локусы были одними и теми же. Шесть деревьев были гетерозиготны по двум локусам и только два дерева имели общие такие локусы. Наиболее представительными в выборке плюсовых деревьев были генотипы с тремя гетерозиготными локусам, их было – 12. Только две пары деревьев имели однотипные генотипы по гетерозиготным локусам. Деревьев с четырьмя гетерозиготными локусам было семь, а с пятью локусам – три. Наиболее высокий уровень наблюдаемой (H_0) гетерозиготности плюсовых деревьев *P. sylvestris* установлен по шести локусам: Gdh (0,442), Mdh-3 (0,419),

Got-3 (0,419), Got-2 (0,279), Dia-1 (0,279) и Dia-4 (0,256). Средняя гетерозиготность плюсовых деревьев по 18 аллозимным локусам составила: $H_0 = 0,203$, $H_E = 0,324$, что говорит о недостатке гетерозигот в этой выборке растений.

По пяти микросателлитным локусам: Spac 11.8 (1**), Ptx2146 (2), Spac12.5 (3), Ptx3025 (4), Ptx3116 (5) гомозиготным было только одно дерево (№ 24), а три дерева имели лишь один такой локус (табл.). При этом в их число входило дерево № 22, которое при изоферментном анализе отличалось максимальной гетерозиготностью. Основная масса деревьев имела два (13) и три (12) гетерозиготных микросателлитных локуса. В каждой из этих двух групп 2–3 дерева имели сходные генотипы по гетерозиготным локусам. Средняя наблюдаемая гетерозиготность (H_0) по пяти микросателлитным локусам составила 0,533, что значительно выше, чем в случае изоферментного анализа. Исследование 44 плюсовых деревьев *P. sylvestris* в Республике Марий Эл (Россия) с применением межмикроса-

теллитного ISSR анализа (9 локусов) показало высокий уровень их общего генетического разнообразия, $h = 0,35$ [6]. Оценки генетической изменчивости, основанные на использовании небольшого числа маркеров не всегда отражают

объективную картину [16]. Следует отметить, что у полиморфных аллозимных локусов в выборке плюсовых деревьев *P. sylvestris* выявлено от 2 до 4 аллелей, а по микросателлитным локусам их было не меньше десяти.

Таблица. Гетерозиготность плюсовых деревьев *Pinus sylvestris* из насаждений на севере Донецкой области по 18 изоферментным и 5 микросателлитным локусам ДНК

Количество гетерозиготных локусов	Изоферменты		Микросателлиты	
	Наблюдаемая гетерозиготность, H_o	№ дерева (№ гетерозиготного локуса)	Наблюдаемая гетерозиготность, H_o	№ дерева (№ гетерозиготного локуса)
0	0	23(0)	0	24(0)
1	0,056	2(3*); 3(4); 7(3); 24(12); 26(4); 28(12); 34(1)	0,2	14(1**); 15(1); 22(2)
2	0,111	11(4,7); 14(3,4); 15(7,8); 25(4,13); 31(3,4); 33(4,14)	0,4	1(2,4); 2(4,5); 4(4,5); 9(2,5); 16(3,4); 17(2,3); 21(2,4); 25(3,4); 29(1,3); 30(1,4); 33(4,5); 34(1,4); 36(1,5)
3	0,167	5(2,3,7); 9(2,3,10); 10(7,9,10); 12(1,2,6); 16(4,8,10); 17(2,8,10); 19(2,8,10); 21(4,11,12); 30(3,8,13); 32(3,10,13); 35(2,3,10); 36(3,10,12)	0,6	3(1,4,5); 8(1,2,3); 10(1,4,5); 11(2,4,5); 12(1,2,3); 13(3,4,5); 19(1,3,4); 20(1,2,4); 23(2,3,4); 26(2,3,4); 31(2,3,4); 32(2,4,5)
4	0,222	1(3,4,10,13); 4(7,8,10,13); 13(4,8,10,13); 18(3,7,8,10); 20(4,7,8,10); 27(2,3,8,11); 29(2,4,10,11)	0,8	5(1,2,3,5); 27(1,2,3,4); 28(1,2,4,5); 35(1,2,3,5)
5	0,278	6(2,4,10,12,13); 8(4,5,7,10,13); 22(2,3,4,7,8)	1	6, 7, 18(1,2,3,4,5)

Примечание. *, ** – номер локуса, который указан в тексте.

Используя мультилокусные генотипы плюсовых деревьев, для каждого из них в сравнении с остальными были рассчитаны бинарные генетические расстояния. Они были использованы для размещения генотипов плюсовых деревьев в пространстве двух главных компонент (рис. 2). Можно выделить три группы, состоящие из генетически близких деревьев: это А – 8, Б – 5 и В – 5. Часть деревьев объединялась в близкорасположенные по бинарным расстояниям пары: Г, Д, Е, Ж, хотя сами пары заметно различались, как и более крупные группы: А, Б и В. Бинарная генетическая дистанция (D) между группами деревьев (А, Б) была существенно меньшей, чем между некоторыми отдельными деревьями, например №19 и №33, №9 и №14. Значительное генетическое расстояние, с помощью RAPD-анализа выявлено между плюсовыми деревьями *P. sylvestris*, выделенными в лесах Литвы [18]. Очевидно, генетические механизмы,

лежащие в основе более интенсивного роста плюсовых деревьев *P. sylvestris*, носят полигенный характер.

Безмерное разнообразие геномной изменчивости, многочисленные комбинации взаимодействия аллелей создают значительные трудности в определении локусов, контролирующих количественные признаки (QTL) у живых организмов. Для сельскохозяйственных растений разработаны цитогенетические методы исследования их сложных геномов и созданы цитогенетические коллекции, которые используются для установления хромосомной локализации генов, ответственных за проявление хозяйственно ценного признака или показателя. Создание геномных карт растений, насыщенных молекулярными маркерами, дает возможность разделить количественный признак на более простые локусы: QTL. Для древесных растений К.В. Крутовский [3] предлагает переходить от популяцион-

ной генетики к популяционной геномике, что позволит расшифровать фенотипические эффекты индивидуальных аллелей и провести идентификацию паттернов адаптивной изменчивости на уровне популяций. Уже начато создание ге-

нетической карты *P. sylvestris* с использованием ESTP и AFLP маркеров, а также микросателлитов [13], как и для других видов рода *Pinus* L. [14].

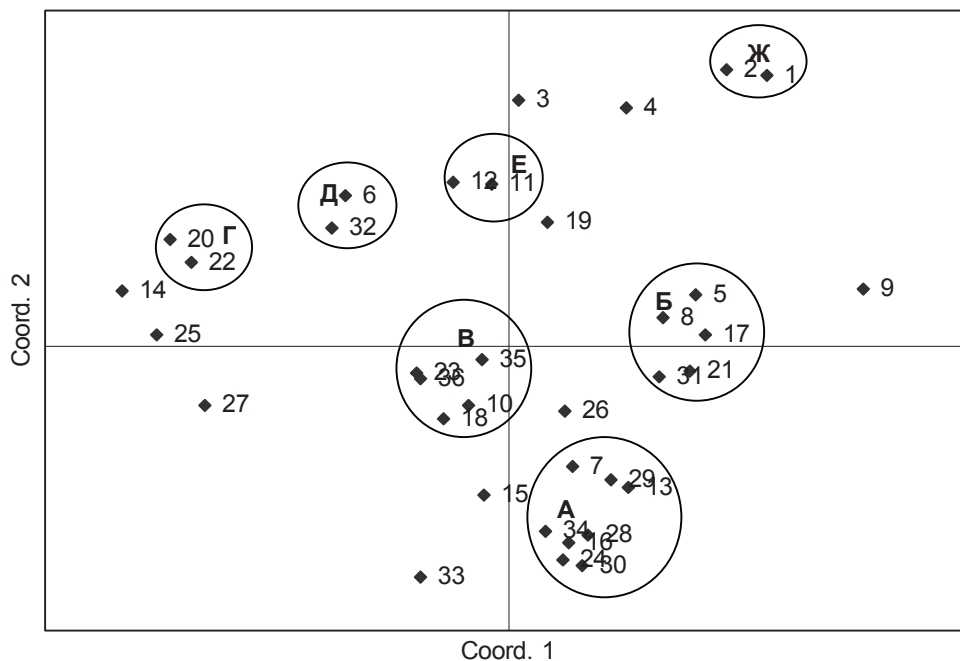


Рис. 2. Ординация плюсовых деревьев *Pinus sylvestris* на основе генетических бинарных дистанций (D) по микросателлитным локусам в пространстве первых двух главных компонент. Деревья №7, 29, 13, 34, 16, 28, 24, 30 – D = 12,82 ± 0,38; деревья №5, 8, 17, 31, 21 – D = 10,70 ± 0,54; деревья №20, 22 – D = 10; деревья №19, 33 – D = 15; деревья №9, 14 – D = 17

Выводы

Таким образом, индивидуальная гетерозиготность деревьев заметно варьирует. В их генотипах выявлено от 0 до 5 гетерозиготных микросателлитных или аллозимных локусов. Мик-

росателлитные локусы позволяют более точно определить аллельное разнообразие и гетерозиготность плюсовых деревьев.

Работа выполнена в рамках проекта ГФФИ № Ф41. 4/046.

Литература

1. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях: Учеб. пособие. 3-е изд. перераб. и доп.; отв. ред. Л.Д. Животовский. – М.: ИКЦ «Академкнига», 2003. – 431 с.
2. Видякин А.И. Эффективность плюсовой селекции древесных растений // Хвойные бореальной зоны. – 2010. – Т. 27, № 1–2. – С. 18–25.
3. Крутовский К.В. От популяционной генетики к популяционной геномике лесных древесных видов: интегрированный популяционно-геномный подход // Генетика. – 2006. – Т. 42, № 10. – С. 1304–1318.
4. Мамаев С.А., Семериков Л.Ф., Махнев А.К. О популяционном подходе в лесоводстве // Лесоведение. – 1988. – № 1. – С. 3–9.
5. Милютин Л.И. Генетико-эволюционные основы устойчивости лесных экосистем // Лесоведение. – 2003. – № 1. – С. 16–20.
6. Милютина Т.Н., Новикова П.С., Шейкина О.В. Молекулярно-генетические исследования плюсовых деревьев сосны на коллекционно-маточном участке // Лесные экосистемы в условиях изменения климата: биологическая продуктивность, мониторинг и адаптационные технологии: матер. междунар. конф. – Йошкар-Ола: МарГТУ, 2010. – С. 81–84.
7. Падутов В.Е., Хотылева Л.В., Баранов О.Ю., Ивановская С.И. Генетические эффекты трансформации лес-

- ных экосистем // Экологическая генетика. – 2008. – Т. 6, №1. – С. 3–11.
8. Политов Д.В. Требуется изучение геномов лесных древесных растений // Лесная Россия. Лесная генетика, селекция и биотехнология в лесном хозяйстве. – 2008. – № 1. – С. 14–17.
 9. Рутковский И.В. Перспективы развития лесного семеноводства // Лесное хозяйство. – 2003. – № 2. – С. 8–10.
 10. Якісний та кількісний аналіз чужинного генетичного матеріалу у рослинній сировині та продуктах харчування за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції: метод. рек. / Ін-т клітин. біології та генет. інженерії НАН України, Держ. установа «Ін-т харч. біотехнології та геноміки НАН України», розробники: Я.Б. Блюм та інш. – К., 2008. – 100 с.
 11. Benbouza H., Jacquemin J.-M., Baudoin J.-P., Mergeai G. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels // Biotechnol. Agron. Soc. Environ. – 2006. – Vol. 10, № 2. – P. 77–81.
 12. Elsik C.G., Minihan V.T., Hall S.E. et al. Low-copy microsatellite markers for *Pinus taeda* L. // Genome. – 2000. – Vol. 43. – P. 550–555.
 13. Komulainen P, Brown GR, Mikkonen M. et al. Comparing EST-based genetic maps between *Pinus sylvestris* and *Pinus taeda* / Theor. Appl. Genet. – 2003. – Vol. 107 (4). – P. 67–78.
 14. Kuang H., Richardson T., Carson S. et al. Genetic analysis of inbreeding depression in plus tree 850.55 of *Pinus radiata* D. Don. I. Genetic map with distorted markers. – Theor. Appl. Genet. – 1999. – Vol. 98 (5). – P. 697–703.
 15. Lundkvist K. Genetic structure in natural and cultivated forest tree populations // Silva Fennica. – 1982. – Vol. 16. – P. 141–149.
 16. Mariette S., Le-Corre V., Austerluz F., Kremer A. Sampling within the genome for measuring within-population diversity: Trade-offs between markers // Molec. Ecology. – 2002. – Vol. 11. – P. 1145–1156.
 17. Soranzo N., Provan J., Powell W. Characterization of microsatellite loci in *Pinus sylvestris* L. // Mol. Ecol. – 1998. – Vol. 7. – P. 1247–263.
 18. Zvingila D., Verbylaite R., Abraitis R. et al. Assessment of genetic diversity in plus tree clones of *Pinus sylvestris* L. using RAPD markers // Baltic Forestry. – 2002. – Vol. 8, № 2 (15). – P. 2–7.

KORSHIKOV I.I., DEMKOVICH A.YE., MAKOGON I.V., KALAFAT L.A., BAGDASAROVA A.R.
Donetsk Botanical Garden, National Academy of Sciences of Ukraine
Ukraine, 83059, Donetsk, Pr. Illicha, 110, e-mail: dbsgenetics@gmail.com

VARIATION OF THE SCOTS PINE PLUS TREES AT ISOZYME AND MICROSATELLITE LOCI

Aims. Analysis of the individual heterozygosity in 35 Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) trees sampled in the plantations of the northern Donetsk region. **Methods.** To determine genotype of plants, we used electrophoretic analysis in polyacrylamide gel of 9 gene-enzyme systems with detection of 14 polymorphic isozyme and 5 microsatellite DNA loci. **Results.** Individual heterozygosity of trees notably varied. There were detected 0 to 5 heterozygous microsatellite or isozyme loci in their genotypes. **Conclusions.** Microsatellite loci provide more exact determination of the allele diversity and heterozygosity of plus trees. **Key words:** *Pinus sylvestris*, plus trees, isozyme and microsatellite loci.

ЛАЦКО Т.А.

Никитский ботанический сад – Национальный научный центр
Украина, 98648, г. Ялта, нпт. Никита, e-mail: cr_way@mail.ru

ОЦЕНКА НАСЛЕДОВНИЯ СРОКА СОЗРЕВАНИЯ ПЛОДОВ В ГИБРИДНОМ ПОТОМСТВЕ *PERSIC VULGARIS* MILL.

Наследование качественных признаков у *Persica vulgaris* mill. происходит, на первый взгляд, довольно просто, по законам Менделя, т.е. по монофакториальной схеме. К основным качественным признакам у *P. Vulgaris* относятся: тип цветка, наличие опушения, характер покровной окраски, цвет кожицы и мякоти, структура мякоти, срастание косточки, рельефный

рисунок косточек, формы железок и ресничек и т.д. За эти и другие признаки отвечают олигогены. Больше разнообразие у персика наблюдается не по качественным, а по количественным признакам: величина листьев, прилистников, цветков и плодов, высота растений, площадь и интенсивность покровной окраски, степень опушения, сроки цветения, созревания и вегета-

ции, содержание биохимических веществ и др. В настоящей работе прослеживается наследование такого свойства культуры как «срок созревания плодов». Это важно, как в теоретическом, так и в практическом плане. Хозяйственникам необходимо иметь сортимент персика от ультра ранних до очень поздних сортов, обеспечивающий

Материалы и методы

Гибридное потомство получено путем скрещивания сортов персика разного срока созревания по методике [2]. Выращены гибридные сеянцы до вступления в пору плодоношения. Всего проанализировано 481 гибридный сеянец 10-15 летнего возраста: 17 комбинаций первого поколения гибридов F_1 и 3 комбинации второго поколения F_2 от самоопыления. Изучение проводилось на протяжении нескольких лет, уста-

Результаты и обсуждение

Анализ гибридов показал, что первое поколение F_1 по качественным признакам (цвет мякоти плода, тип цветка и т. д.) имели более однородную популяцию. Различия наблюдаются по количественным признакам: варьирование по форме плода, по степени покрытия покровной окраски (% площади), по срокам цветения и созревания плодов, по устойчивости к болезням. Потомки второго поколения от самоопыления F_2 были более разнообразны по качественным и количественным признакам.

В таблице представлено распределение гибридных сеянцев персика по срокам созревания плодов различных комбинаций скрещивания. В качестве материнской формы взяты сорта средней, средне-поздней и поздней групп созревания. Сорта ранней и ранне-средней групп в качестве материнских форм не использовались, потому что их семена, как правило, невсхожи. В качестве отцовской родительской формы привлекались сорта от ультра раннего срока созревания (вторая декада июля) до позднего (первая декада сентября). В комбинации скрещивания ранних сортов (Мадлен Пуйе, Старк Ред Голд) и средне-поздних (Моравия и Старт) гибридное потомство было промежуточного типа с преобладанием ранне-среднего срока созревания (конец июля – начало августа). Встречались формы гетерозисного типа, т.е. еще более поздние, чем родительские.

Подобная картина наблюдается при скрещивании ранне-средних (Гвардейский Желтый, Армголд) и поздних или среднепоздних сортов (Москвич, Рот Фронт, Старт).

В комбинации Рубиновый х Нектамира

бесперебойный конвейер свежей продукции для потребления, а также сырья для переработки. Бесконечное расширение этого периода непрерывного созревания путем создания новых сортов ограничено биологическими особенностями культуры и агро-климатическими факторами данной зоны.

навливалась средняя дата созревания сеянца по методике [1]. Анализ гибридных сеянцев по «сроку созревания» плодов, осуществлялся путем разбивки их на группы созревания с интервалом в 10 дней: первая, вторая и третья декада месяца. Всего получилось 12 групп созревания. Исследования проводились в южной степной климатической зоне Украины.

F_2 124–78 прослеживается большее влияние материнского сорта в сторону более позднего созревания, а в комбинации Моравия х Старк Ред Голд – отцовского сорта, в сторону более раннего созревания. В комбинациях Валиант х Кодру, Валиант х Товарищ и Элегия х F_1 140–75 среди потомства выделяются две группы: одна ближе к материнскому типу, другая – отцовскому. В пяти комбинациях скрещивания (12–16) участвуют сорта одного или очень близкого срока созревания. Их гибридное потомство по дате созревания распределяется в широком диапазоне, 50–80 дней. Встречаются сеянцы с ранним, раннесредним, средним, среднепоздним, поздним и очень поздним созревания. Доминируют гибриды с материнским типом срока созревания и более позднего по сравнению с ним (Гурзуфский х F_1 26–76, Турист х F_1 26–76, Спартак х F_1 26–76, Рубиновый х Товарищ и Дакота х Товарищ).

В гибридных семьях второго поколения F_2 наблюдаются другие особенности. От родителей позднего срока созревания получают формы в одном случае только поздние и очень поздние и лишь одна – средняя ((Турист х Ферганский) 63–48 сам.), в другом – поздние, среднепоздние и средние гибриды (Горный Хрусталь сам.). При скрещивании среднего и среднепозднего сортов получились гибриды только позднего и очень позднего созревания (19).

Таким образом, распределение потомства по сроку созревания плодов в наших исследованиях очень разнородно. В целом прослеживаются четыре типа или закономерности распределения: нормальное (1, 5, 6, 13, 14, 18 и 20 комби-

нации), биполярное (бимодальное) (9, 10 и 17), ассиметричное (4, 8, 12, 15, 16, 19), хаотичное или другое (2, 3, 7, 11). Нормальное, ассиметричное или бимодальное распределение потомства персика отмечалось Френчем [5]. Нормальное распределение потомства говорит об обычном количественном наследовании признака [3]. Наблюдавшиеся при некоторых скрещиваниях

ассиметричные и бимодальные распределения семян, говорят в пользу наличия главных генов (олигогенов), контролирующих раннеспелость, как в потомстве сорта Старк Ред Голд, так и позднее созревание, как в потомстве «Товарища». Такое распределение потомства согласуется с исследованиями Вайнбергера, Бейли и Хауф [7, 4].

Таблица. Распределение гибридных семян персика F₁ и F₂ по срокам созревания плодов

№ п/п	Комбинация скрещивания	Количество семян по сроку созревания плод: мес/ декада													
		06			07			08			09			10	
		III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II		
Гибриды F₁															
1	Моравия х Мадлен Пуйе	†		1	5	4	3		□						
2	Старт х Мадлен Пуйе	†			4	1	2	□	2						
3	Старт х Старк Ред Голд		†		1	1	1		□	1					
4	Моравия х Старк Ред Голд		4 †	11	3	3	0	0	□	1					
5	Старт х Армголд			† 1	2	1		□							
6	Рот Фронт х Гвардейский Желтый			†	2	10	8	3		□					
7	Москвич х Гвардейский Желтый			†		6	4			□					
8	Рубиновый х Нектамира F2 124-78				†		2	10	7	□					
9	Валиант х Кодру				5 †	1	0	3	□	1					
10	Элегия х F1 140-75					7 †	3	6	□	4	2				
11	Золотая Москва х Ведетга						1 □†			1					
12	Турист х F1 26-76		1			1	2	8	†	21□	8				
13	Гурзуфский х F1 26-76					4	0	9	†	16□	11	0	1		
14	Спартак х F1 26-76					1	9□	14	□†	8	3	1			
15	Рубиновый х Товарищ							1	□†	31	11	7	1		
16	Дакота х Товарищ							5□	□†	37	26	3			
17	Валиант х Товарищ						10 □	5	□	9					
Гибриды F₂ от самоопыления															
18	(Турист х Ферганский) 63-48 с.						1	0	□†	4	31	9	0	1	
19	(Лауреат х Златогор) 73-2 с.					□		†		3	10	11	1	1	
20	Горный Хрусталь сам.						1	3	□†	3	1				

Примечания: □ - женская родительская форма; † - мужская родительская форма.

Авторы представили теоретическую схему для объяснения подобных результатов [3]. Она включает девять «главных или доминантных» генов и 10-генов-модификаторов. Каждому из родителей и потомков были приписаны предварительные генотипы с этими 19 локусами, которых достаточно для обычного полигенного объяснения таких количественных признаков. И достаточно, чтобы соответствовать полигенной теории Френча с влиянием нескольких главных генов. Бейли и Хауф приписывают эффект доминирования, эпистаза, взаимодействия и сцепления специфичным генам своей схемы.

Существует мнение [6], что средние значения созревания для родителей коррелируют со средними значениями для потомства, был выявлен довольно высокий коэффициент наследуемости для даты созревания, равный 0,84. По этой теории признак «дата созревания» находится под аддитивным действием генов. Подобные результаты получились и в 1, 6 и 7 комбинациях скре-

щивания наших исследований. В этих гибридных семьях родительские формы по срокам созревания наиболее удалены друг от друга (на 50–70 дней), и потомство распределяется, главным образом, в пределах между сроками созревания родителей. При уменьшении этой разницы, начиная с двенадцатой комбинации (12–16), такая закономерность не соблюдается. Появляется много гибридов, выходящих за рамки сроков созревания родителей. Больше всего потомков с более поздним сроком созревания. Эта особенность выявлена и во втором поколении гибридов F₂ от самоопыления (18 и 19 комбинация).

Среди гибридных потомков отмечены варианты с выскакивающими значениями: очень ранним или очень поздним сроком созревания. Это также согласуется с некоторыми авторами, которые объясняют такие случаи точковыми мутациями.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать следующие выводы.

Выводы

1. При скрещивании сортов персика с разным сроком созревания плодов отмечается расщепление потомства по этому признаку в первом и втором поколениях.

2. Отмечено несколько типов распределения потомства по «сроку созревания»: нормальное, асимметричное, бимодальное и хаотичное, что свидетельствует о контроле данного признака не только полигенами, но и олигогенами.

3. При скрещивании сортов, сильно различающихся по срокам созревания плодов (50–70 дней), основная масса гибридного потомства в F₁ распределяется в пределах значений созревания родительских форм. При уменьшении различий по сроку созревания родителей (до 10–20 дней) в распределении гибридного потомства наблюдается сдвиг в сторону более позднего срока созревания, выходящий за пределы родительских форм.

Литература

1. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под общей ред. Лобанова Г.А. – Мичуринск, 1974. – 495 с.
2. Программа и методика селекции плодовых ягодных и орехоплодных культур / Под общей ред. Лобанова Г.А. – Мичуринск, 1980. – 532 с.
3. Хессе К.О. (Hesse C.O.) Персик // Селекция плодовых растений. – М. «Колос», 1981. – С. 390–462.
4. Bailey C.H., Hough L.F. A hypothesis for the inheritance of season of ripening in progenies from certain early ripening peach varieties and selections // Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. – 1959. – Vol. 73. – P. 125–133.
5. French A.P. The peach. Inheritance of time of ripening and other economic characters // Mass. Agr. Expt. Sta. Bul. – 1951. – 462 с.
6. Hansche P.E., Hesse C.O., Beres V. Estimates of genetic and environmental effects on several traits in peach // J. Amer. Soc. Hort. Sci. – 1972. – Vol. 97. – P.76–79.
7. Weinbeger J.H. Characteristics of the progeny of certain peach varieties // Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. – 1944. – Vol. 45. – P.233–238.

LATSKO T.A.

*Nikitsky botanical garden – National Scientifically Center
Ukraine, 98648, AR Crimea, Yalta, Nikita, e-mail: cr_way@mail.ru*

ASSESSMENT INHERITANCE OF FRUIT RIPENING PERIOD IN HYBRID PROGENIES *PERSICA VULGARIS* MILL.

Aims. It is believed that the fruit ripening period peach *Persica vulgaris* mill. controlled by polygenes and is

inherited by the type of quantitative traits. The available data are different and contradictory. The goal was to trace the inheritance of fruit ripening period in the first and second generation of hybrid peach. The question is of practical and theoretical importance. **Methods.** Hybridization and selection study performed by the program and the methods of selection and study of varieties of fruit, berry and nut crops, developed Michurinsk (1974, 1980). Assessment of 20 crossing combinations hybrid families held in the southern steppe agro-climatic zone of Ukraine. **Results.** The analysis of the offspring (first and second F₁ F₂ generations) on the term of fruit ripening revealed four types of hybrid seedlings segregating normal, skewed, bimodal and erratic. **Conclusions.** This segregating of the peach hybrid progenies on deadline the fruit ripening period proves confirms not only polygenic, but oligogene control of this trait.
Key words: *Persica vulgaris* m., hybrid progenies F₁ and F₂, inheritance of time of ripening.

МАЛЕЦКАЯ Е.И., ЮДАНОВА С.С.

Институт цитологии и генетики СО РАН

Россия, 630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева, 10, e mail: e_mal@bionet.nsc.ru

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИКСОПЛОИДИИ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ В АПОЗИГОТИЧЕСКИХ ПОТОМСТВАХ ГАПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЁКЛЫ

Растения сахарной свеклы формируют гермафродитные цветки, что позволяет им репродуцировать семена путем перекрестного оплодотворения и самооплодотворения. Перекрестное оплодотворение относится к зиготическому (двуродительскому) способу семенной репродукции. Самооплодотворение – это одnorodительский, но зиготический тип репродукции семян. Показано, что в популяциях свеклы встречаются растения, способные завязывать семена партеногенетически, т.е. без участия пыльцы [1–4]. Это одnorodительский тип репродукции семян (апозиготия или агамоспермия). В совокупности гамоспермия и агамоспермия образуют единую систему репродукции и не всегда бывает очевидным, каким путем будут получены семена у сахарной свеклы в ходе конкретного наблюдения. Склонность растений свеклы к различным способам семенной репродукции может рассматривать в качестве внутрипопуляционного полиморфизма репродукционных признаков сахарной свёклы.

Как показали наши многолетние наблюдения, большая часть семян при одnorodительской репродукции свеклы диплоидны, а в семенном потомстве наблюдается расщепление по маркерным признакам [4, 5]. Из этого можно заключить, что диплоидные семена возникают из зародышевых клеток, прошедших мейотическое деление. Действительно, гаметы с нередуцированным числом хромосом возникают спонтанно у большого числа растительных объектов, и этот феномен связан с эпигеномной изменчивостью [6, 7]. Эпигеномная изменчивость гамет связана с аналогичной изменчивостью в соматической

ткани. Полиплоидные клетки возникают из диплоидных путем эндомитоза, а последующая редукция числа хромосом в мейозе приводит к появлению диплоидных гамет. Синонимом эпигеномной изменчивости является термин миксоплоидия, когда в клеточной популяции наряду с доминирующей фракцией клеток встречаются клетки с меньшим или большим числом хромосом. Особенно широко распространено это явление оказалось в семействе *Chenopodiaceae*. Е.И. Харечко-Савицкой [8] были проведены детальные исследования этого явления у свеклы. Наиболее часто встречалось беспорядочное чередование отдельных клеток или небольших участков ткани с различным кариотипом. Иногда это явление затрагивало непосредственно точку роста молодого побега. При отсаживании такого побега развивалось полиплоидное растение [8].

Гаплоидия – один из эффективных способов решения селекционно-генетических задач по созданию форм с устойчивым наследованием полезных признаков у сахарной свёклы (раздельноцветковость, стерильность, урожайность и т.д.). Одной из главных методических задач при создании исходного материала для селекции является получение гаплоидных потомств в достаточном объеме. Семена с гаплоидным (одинарным) набором хромосом могут возникать спонтанно у растений, репродуцируемых зиготическим (двуродительским) способами, но их частота возникновения очень низка ($10^{-4} - 10^{-6}$). Использование же одnorodительского размножения позволяет получить достаточно высокий уровень выхода гаплоидных семян [9, 10].

Цель настоящей работы: провести цитологический анализ клеточных меристем сахарной свёклы у выделенных гаплоидных растений,

Материалы и методы

В качестве материала для исследования взяты семена коммерческого мс-гибрида «Лентурон». Гибридные пыльцестерильные растения выращивали на изолированном участке в беспыльцовом режиме (Новосибирск, 2010–2011 гг.). Для исключения попадания пыльцы в размножения проводятся следующие мероприятия: 1) на изолированном участке выращиваются только мс-растения (ms 0 и ms 1)¹; 2) все полфертильные растения (ms 2)¹ удаляются до распускания первого цветка; 3) идентификацию растений по фенотипу пыльцы проводится ежедневно в течение всего срока цветения, так как некоторые растения характеризуются мозаичным фенотипом. Такие растения также удаляются с участка размножения. Таким способом получают поколение A₁. В следующем году в таком же режиме репродуцируются семена растений A₁ с целью получения потомства A₂. В беспыльцовом режиме репродукции становится возможной развитие эмбрионов без оплодотворения (апозиготия). Потомства, получаемые при беспыльцовом (апозиготическом) режиме семенной репродукции, являются дигаплоидами.

Отбор гаплоидов проводили в поколении A₁ по морфобиологическим признакам при проращивании семян [12–14].

Всего просмотрено 300 проростков у гибрида «Лентурон» и доля гаплоидных проростков

¹ фенотипы стерильных растений определяли по классификации Оуэна [11]

Результаты и обсуждения

Цитологическая картина (число хромосом в ядрах клеток) имеет решающее значение для характеристики растений. В исследуемом материале встречаются клетки с различным числом хромосом. В поколении A₁, в котором проводился отбор гаплоидов, более 40 % клеточной популяции имело гаплоидный набор хромосом, 22,7 % клеток было диплоидными (табл. 1, п/п 1). Кроме того встречались полиплоидные клетки и отклонения, когда клетки содержали число хромосом не кратное 9 ($x = 9$). Отобранные гаплоиды после семенной репродукции показали схожий результат (поколение A₂): доля

а также оценить уровень миксоплоидности клеточных популяций исследуемых растений.

составила 11,48 %. В дальнейшем гаплоидные проростки высаживали в отдельные горшочки и выращивали при +25 °С и влажности 60 % в течение двух месяцев в камере с искусственным климатом «Биотрон-4» (пр-во ГНУ СибФТИ СО РАСХН). Затем рассаду высаживали в поле для выращивания корней. От полученных растений были получены семенные потомства (поколение A₂). Цитологический контроль осуществлялся путём подсчета числа хромосом и оценки миксоплоидности клеточных популяций с помощью косвенного метода определения плоидности – число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц [15]. В процессе развития растений у свеклы наблюдается геномная нестабильность, что приводит к миксоплоидности клеточных популяций. За счёт этого может происходить естественная диплоидизация гаплоидов и образование удвоенных гаплоидов.

Для окраски хромосом в точках роста молодых листочков и корешках материал обрабатывали 8-оксихинолином, затем фиксировали и окрашивали лакто-пропионовым орсеином [16]. Подсчет числа хлоропластов в замыкающих клетках устьиц – косвенный метод определения миксоплоидности клеточных популяций. Его проводили на листьях среднего размера, подсчитывали хлоропласты в 50 клетках каждого растения. Для окраски хлоропластов использовали азотнокислое серебро (AgNO₃).

гаплоидных клеток составила 37 %, однако полиплоидных клеток в эксперименте не наблюдалось, а доля диплоидных клеток не превысила 4 % (табл. 1, п/п 2). Такое разнообразие (табл. 1, рис.) свидетельствует, что в онтогенезе гаплоидов свеклы имеет место геномная нестабильность. Наблюдая такую изменчивость однозначно нельзя утверждать, что исследуемое растение является гаплоидным, ди-, три- или тетраплоидным, так как на препарате одного и того же растения присутствуют клетки с разным числом хромосом в ядрах (от 6 до 36 шт. и более).

Таблица 1. Изучение клеточной популяции по числу хромосом в апозиготических поколениях A_1 и A_2

п/п	поколение	Кол-во клеток с число хромосом, шт. (%)						Всего клеток
		< 9	9	10-17	18	27	36 и >	
1	A_1	5 (1,9)	105 (40,4)	65 (25,0)	59 (22,7)	22 (8,5)	4 (1,5)	260
2	A_2	4 (3,3)	46(37,4)	68 (55,3)	5 (4,0)	0	0	123

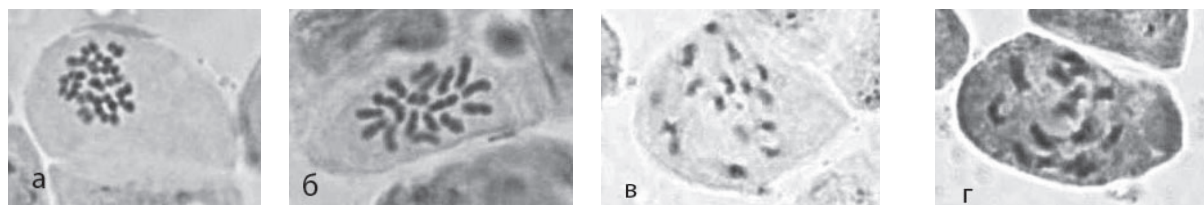


Рис. Фото клеток с различным числом хромосом: а – 36 хромосом; б – 18 хромосом; в – 16 хромосом; г- 13 хромосом

В таблице 2 приведены данные исследования растений по числу хлоропластов в замыкающих клетках устьиц. Эта методика является косвенным методом определения пloidности. С её помощью можно интегрально оценить клеточную популяцию растения. В поколении A_1 число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц в среднем составило 14,6 хлоропластов на клетку, а диапазон изменчивости – 12-19 шт. на клетку. В поколении A_2 число хлоропластов было в среднем 13,0 шт., диапазон изменчивости

составил 8-18 шт. на клетку. Кроме того растения поколения A_2 показали высокий размах изменчивости в клеточной популяции ($\sigma^2 = 2,5$) в отличие от исходного поколения (A_1). Данные по числу хлоропластов в замыкающих клетках устьиц и числу хромосом в меристематических клетках свидетельствуют о нестабильности клеточных популяций растений, полученных при однородительском размножении. Наличие диплоидных клеток у гаплоидных растений свидетельствует о возможности спонтанной диплоидизации.

Таблица 2. Изучение клеточной популяции по числу хлоропластов в замыкающих клетках устьиц в апозиготических поколениях A_1 и A_2

Поколения	Распределение числа хлоропластов			Всего растений
	всего клеток	M	σ^2	
A_1	250	14,6± 0,76	1,54	5
A_2	300	13,0± 0,21	2,3	6

В процессе развития растений и при апозиготическом размножении у свеклы наблюдается геномная нестабильность, что приводит к миксопloidности клеточных популяций меристем. За счёт самоудвоения числа хромосом может происходить естественная диплоидизация гаплоидов и образование удвоенных гаплоидов. Мнение большинства исследователей по цитогенетике сводится к тому, что, гаплоидный уровень является одним из крайних состояний существования растительных организмов, а диплоидный уровень является наиболее сбалансированным. Между тем гаплоидные клетки имеют некоторые преимущества в клеточной попу-

ляции, у них более короткий митотический цикл, и успех получения диплоидных гомозигот (дигаплоидов) в значительной степени будет зависеть от доли диплоидных клеток в миксопloidной ткани гаплоидов [17].

Из-за нарушений деления, эндополипloidии, полипloidии возникает миксопloidность клеточных популяций, и гаплоидные клетки могут быть легко вытеснены диплоидными и теоретически возврат к диплоидной форме является процессом достаточно легко осуществимым. Диплоидизация может происходить также и вследствие многоядерности клеток, частного случая миксопloidии [18].

Выводы

1) Показано, что доля гаплоидных проростков в семенных партиях у гибрида Лентурон составила 11,4 %. 2) в клеточных популяциях наблюдается вариабельность как по числу внутриклеточных органелл (хлоропластов), так и по числу хромосом в клеточных популяциях вер-

хушечной меристемы. 3) миксоплоидность клеточных популяций свидетельствует о том, что именно за счет этого процесса может происходить спонтанная диплоидизация гаплоидных растений.

Работа выполнена при поддержке грантов: Интеграционного гранта №3 Президиумов СО РАН и НАН Белоруссии, а также грантов РФФИ: 12-04-90000-Бел-а, 13-04-00012-а и 13-04-90403-укр_ф_а.

Литература

1. Фаворский Н.В. Материалы по биологии и эмбриологии сахарной свеклы // Тр. науч. тр. института селекции. – Киев, – 1928. Вып. 2. – С. 1–18.
2. Ширяева Э.И., Ярмолук Г.И., Кулик А.Г., Червякова В.В. Апомиксис у самоопыленных линий сахарной свеклы и использование его в селекции // Цитология и генетика. – 1989. – Т. 11. – С. 32–48.
3. Сеилова Л.Б. Апомиксис у сахарной свеклы и его использование в практической селекции. // Автореферат дис. д-ра биол. наук. – Алматы. – 1996. – 44 с.
4. Малецкий С.И., Малецкая Е.И. Самофертильность и агамоспермия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. – 1996. – Т. 32, №12. – С. 1643–1650.
5. Левитес Е.В., Овечкина О.Н., Малецкий С.И. Авто- и эписегрегация по признакам окраски в агамоспермных потомствах сахарной свеклы // Генетика, 1999. Т. 35, №8. – С. 1086–1092.
6. Frenkel R. Uber das Auftreten von unreduzieren Gameten bei Angiospermen // Arch.Zucht.Forsch. – 1975. – Vol. 5. – P. 201–208.
7. Малецкий С.И., Колодяжная Я.С. Генетическая изменчивость в популяциях соматических клеток и ее влияние на репродуктивные признаки у покрытосеменных растений // Успехи современной генетики. – 1999. – Vol. 119, №2. – С.128–143.
8. Харечко-Савицкая Е.И. Цитология и эмбриология сахарной свеклы // Свекловодство. – К.: «Госсельхозиздат», 1940 – Т. 2. – С. 453–550.
9. Малецкая Е.И., Малецкий С.И. Апозиготический способ репродукции семян и гаплоидия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Сборник научных трудов: «Факторы экспериментальной эволюции организмов». – К.: «ЛОГОС» – 2006. – Т. 3. – С. 274–279.
10. Maletskaya E.I., Yudanova S.S., Maletskii S.I. Haploids in apozygotic seed progenies of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // Sugar Tech. – 2009. – Vol. 11 (1). – P. 61–65.
11. Owen F.V. Cytoplasmically inherited male sterility in sugar beets // Journ. Agric. Res. – 1945. – Vol. 71 (10). – P. 423–440.
12. Карпеченко Г.Д. Экспериментальная полиплоидия и гаплоидия / Вавилов Н.И. (ред.) Теоретические основы селекции растений. – М., Л.: «Сельхозгиз», 1935. – Т. 1. – С. 397–432.
13. Тырнов В.С. Гаплоидия у растений. Научное и прикладное значение / М.: Наука – 1998. – 54 с.
14. Малецкая Е.И. Получение гаплоидных растений у сахарной свеклы // Сб. науч. тр.: «Реализация идей Вавилова на современном этапе развития генетики, селекции и семеноводства сельскохозяйственных культур». – Новосибирск, 2007. – С. 205–211.
15. Savitsky H. Effectiveness of selection for tetraploids plants in C0 generation on the basis of the number of chloroplasts in stomata // Amer. Soc. Sugar Beet Technol. – 1966. Vol. 13, №8. – P. 655–661.
16. Preeeda N., Yanagi T., Sone K., Taketa S., Okuda N. Chromosome observation method at metaphase and prometaphase stages in diploid and octoploid strawberries // Scintia horticulturae. – 2007. – Vol. 114. – P. 133–137.
17. Хохлов С.С., Гришина Е.В., Тырнов В.С. и др. Гаплоидия у покрытосеменных растений. – Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 1974. – Ч. II. – 180 с.
18. Юданова С.С. Миксоплоидия клеточных популяций сахарной свеклы и ее связь с репродуктивными признаками // Дис. канд. биол. наук. – Новосибирск. – 2004. – 126 с.

MALETSKAYA E.I., YUDANOVA S.S.

*Institute of Cytology and Genetics Siberian Branch of Russian Academy of Science
Russia, 630090, Novosibirsk, av. Lavrenteva, 10, e-mail: e_mal@bionet.nsc.ru*

CYTOLOGICAL ANALYSIS OF MIXOPLIIDY OF CELL POPULATIONS IN APOZYGOTIC OFFSPRINGS OF HAPLID PLANTS IN SUGAR BEETS

The *goal* of the paper was a cytological analysis of cells populations in the haploids plants of sugar beets.

Methods. A primary selection of haploids seedlings from apozygotic seed samplings was made by the morphological characters. Then the haploid state of plant was controlled by cytological methods. **Results.** It was examined a chloroplast number distribution in stomata guard cells and chromosome number distribution in cell nuclei of meristem. A broad variability of chloroplast number in cell populations was occurred. Number of chromosome in cell nuclei varied from 6 to 54 per cell. The share of diploid cells makes up 22.7 % in A_1 generation and accounts for only 4 % in A_1 generation. **Conclusion.** 1) It was shown that a share of haploid seedlings in seed sets of hybrid Lenturon make up 11.4 %. 2) Both a variability of chloroplast numbers and chromosomes numbers in apical meristems was observed in cell population. 3) The mixoploidy of cell populations indicates that spontaneous diploidization can be occur in of haploid plants.

Key words: cytological analysis, cells populations, haploids plants, mixoploidy, sugar beets.

МАМАЛИГА В.С.¹, КОНДРАТЕНКО М.І.², БУГАЙОВ В.Д.², ЯНЧУК В.І.¹

¹ Вінницький національний аграрний університет

² Інститут кормів та СГ Поділля НААН

Україна, 21008, м. Вінниця, вул. Сонячна, 3, e-mail: stepanovich1@yandex.ru

АНАЛІЗ УСПАДКУВАННЯ ДЕЯКИХ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК ГОРОХУ ПОСІВНОГО

Основним методом селекції гороху залишається гібридизація і спрямований систематичний добір перспективних форм з гібридного матеріалу. Успіх селекційної роботи при використанні даного методу визначається багатьма чинниками, одним з найважливіших серед них, за М.І.Вавиловим, є правильний підбір батьківських пар для схрещування [1]. За даними багатьох дослідників, однією з вихідних форм при гібридизації має бути зразок, що вже проявив добру екологічну пристосованість в ареалі можливого вирощування майбутнього сорту. В найбільш повній мірі цій умові відповідають зареєстровані та рекомендовані для вирощування в даній зоні сорти, які також мають мінімальну кількість негативних ознак.

В основі селекційної оцінки сортозразків, які планується використати в гібридизації, знаходиться інформація про характер успадкування господарсько-цінних ознак у них. Отримати таку інформацію можна шляхом схрещування відповідних сортозразків з іншими сортозразками

Матеріали і методи

Для дослідження були взяті 5 рекомендованих до вирощування в зоні Лісостепу України сортів гороху різних морфотипів – Харківський еталонний (напівбезлисточковий, напівкарликовий, неосипаємий), Світязь (листочковий, неосипаємий), Ефектний (напівбезлисточковий, осипаємий), Харді (напівбезлисточковий, осипаємий), Вінець (листочковий, неосипаємий). Між цими сортами були проведені схрещування з метою отримання гібридів F_1 між ними в кілько-

за різними схемами і подальшого аналізу отриманих гібридів F_1 та батьківських сортів за ознаками, що цікавлять дослідника. Рівень врожайності гороху визначається багатьма кількісними показниками, при оптимальному співвідношенні яких формується максимальний врожай. Ознаки кількості насінин з рослини, бобів на рослині, фертильних вузлів, бобів на фертильному вузлі, насінин в бобі, загальна кількість вузлів, довжина фертильної частини та маса 1000 насінин (в порядку значимості) забезпечують максимальний вклад в ознаку індивідуальної продуктивності – масу зерна з рослини [2].

Метою нашої роботи було вивчення характеру успадкування основних господарсько-цінних ознак у високопродуктивних сортів гороху різних морфотипів з метою створення нового вихідного матеріалу для селекції на покращення показників продуктивності і адаптивної здатності та підвищення технологічності збирання.

сті 10 гібридних комбінацій.

Досліди проводились в селекційній сівозміні дослідного господарства «Бохоницьке» Інституту кормів та сільського господарства Поділля НААН на сірих лісових ґрунтах з наступними агрохімічними показниками в орному (0–30 см) шарі: вміст гумусу (за Тюрнімом) 2,1–2,4 %, легкогідролізованого азоту (за Корнфілдом) 9–11,2 мг, рухомого фосфору і обмінного калію (за Чиріковим) 2,1–14,2 і 8,1–11,6 мг/100 г ґрун-

ту, відповідно. Реакція ґрунтового розчину (рН) 5,1–5,3, гідролітична кислотність 3,5–3,8 мг-екв. на 100 г ґрунту при ступені насиченості основами 75–80 %.

Польові дослідження, спостереження, обліки та проміри проводилися згідно з Методикою державного сортовипробування с.-г. культур та Методичними вказівками ВІР [3, 4].

Гібриди F₁ та батьківські сорти досліджувалися в лабораторних умовах за основними господарсько-цінними ознаками, такими як «кіль-

Результати та обговорення

Виявлено, що успадкування ознак зернової продуктивності у гібридів гороху першого покоління в переважній більшості комбінацій відбувається за типом позитивного наддомінування. В експериментальному матеріалі за ознакою «кількість плононосних вузлів стебла» ефект позитивного наддомінування було виявлено в п'яти (50 %), за ознакою «кількість бобів на одну рослину» в п'яти (50 %), за ознакою

кількість плононосних вузлів стебла», «кількість бобів на одну рослину», «кількість насінин на одну рослину» і «маса насіння з рослини». Ступінь фенотипового домінування в F₁ (hp) визначали за формулою Гриффінга [5].

Групування отриманих даних проводили згідно з методикою Veil, Atkins [6].

Ступінь гетерозису (Г) визначали шляхом порівняння гібриду першого покоління з кращою батьківською формою [7].

«кількість насінин на одну рослину» в семи (70 %) і за ознакою «маса насіння з рослини» в шести гібридних комбінаціях з десяти (60 %), що характеризує їх як гетерозисні.

Ступінь фенотипового домінування за ознакою «кількість плононосних вузлів стебла» в гібридних комбінаціях F₁ гороху представлений в табл. 1.

Таблиця 1. Успадкування кількості плононосних вузлів стебла у гібридів F₁ гороху, 2011 р.

Комбінація	Кількість плононосних вузлів стебла, шт.			Ступінь фенотипового домінування (hp)
	♀	F ₁	♂	
	x ± S x			
Ефектний/Світязь	3,8±0,05	5,2±0,06	5,6±0,12	0,56
Харді/Світязь	3,2±0,08	5,7±0,12	5,6±0,10	1,08
Харді/Ефектний	3,2±0,09	3,6±0,10	3,8±0,08	0,33
Вінець/Світязь	4,8±0,17	4,8±0,16	5,6±0,17	-1,00
Вінець/Ефектний	4,8±0,18	6,2±0,14	3,8±0,12	3,80
Вінець/Харді	4,8±0,13	5,3±0,11	3,2±0,09	1,63
Харківський еталонний/Світязь	2,0±0,03	8,0±0,18	5,6±0,15	2,33
Харківський еталонний/Ефектний	2,0±0,04	4,9±0,10	3,8±0,08	2,22
Харківський еталонний/Харді	2,0±0,05	3,1±0,08	3,2±0,09	0,83
Харківський еталонний/Вінець	2,0±0,06	2,0±0,05	4,8±0,12	-1,00

Як свідчать дані таблиці 1, в п'яти гібридних комбінаціях успадкування ознаки «кількість плононосних вузлів стебла» відбувалося за типом позитивного наддомінування (Харді/Світязь (hp=1,08), Вінець/Ефектний (hp=3,80), Вінець/Харді (hp=1,63), Харківський еталонний/Світязь (hp=2,33) і Харківський еталонний/Ефектний (hp=2,22)). В двох комбінаціях було відмічене позитивне домінування (Ефектний/Світязь (hp=0,56) і Харківський еталонний/Харді (hp=0,83)), в двох – повне негативне

домінування форми з меншим вираженням ознаки (Вінець/Світязь (hp= -1,00) і Харківський еталонний/Вінець (-1,00)) і в одній – проміжне успадкування (Харді/Ефектний (hp= 0,33)).

Ознака «кількість бобів на одну рослину» є однією з найважливіших в структурі зернової продуктивності рослини гороху. Кількість бобів на одну рослину формують дві складові – кількість плононосних вузлів стебла та кількість бобів на один плононосний вузол, кожна з яких має свій характер успадкування. На рівень ви-

раження даної ознаки в значній мірі впливають умови вирощування рослин, тому вона є однією з найбільш варіабельних. Ступінь фенотипового домінування кількості бобів на одну рослину в гібридних комбінаціях F₁ гороху представлений в табл. 2.

За ступенем фенотипового домінування у п'яти з десяти комбінацій гороху, що досліджувалися, успадкування ознаки „кількість бобів на одну рослину” відбувалося за типом наддомінування (Харді / Світязь (hr = 1,14), Вінець / Ефектний (hr = 4,64), Вінець / Харді (hr = 1,38), Харківський еталонний / Світязь (hr = 1,35), і Харківський еталонний / Харді (hr = 11,0)). В трьох

комбінаціях було відмічене позитивне домінування та повне позитивне домінування (Ефектний / Світязь (hr = 0,63), Вінець / Світязь (hr = 0,60) і Харківський еталонний / Ефектний (hr = 1,00)), в одній – проміжний тип успадкування (Харді / Ефектний (hr = -0,19)) і в одній - негативне домінування – (Харківський еталонний / Вінець (hr = -0,79)).

Кількість насінин на рослині разом з масою 1000 насінин детермінує масу насіння з рослини. Ступінь фенотипового домінування за ознакою «кількість насінин на одну рослину» в гібридних комбінаціях F₁ гороху представлений в табл. 3.

Таблиця 2. Успадкування кількості бобів на одну рослину у гібридів F₁ гороху, 2011 р.

Комбінація	Кількість бобів на одну рослину, шт.			Ступінь фенотипового домінування (hr)
	♀	F ₁	♂	
	x ± S x			
Ефектний / Світязь	8,0±0,12	9,3±0,11	9,6±0,23	0,63
Харді / Світязь	3,8±0,10	10,0±0,21	9,6±0,17	1,14
Харді / Ефектний	3,8±0,11	5,5±0,16	8,0±0,18	-0,19
Вінець / Світязь	9,1±0,34	9,5±0,33	9,6±0,32	0,60
Вінець / Ефектний	9,1±0,36	11,1±0,27	8,0±0,26	4,64
Вінець / Харді	9,1±0,25	10,1±0,22	3,8±0,11	1,38
Харківський еталонний / Світязь	3,4±0,06	10,7±0,26	9,6±0,28	1,35
Харківський еталонний / Ефектний	3,4±0,08	8,0±0,18	8,0±0,18	1,0
Харківський еталонний / Харді	3,4±0,07	5,8±0,16	3,8±0,11	11,0
Харківський еталонний / Вінець	3,4±0,10	4,0±0,12	9,1±0,26	-0,79

Таблиця 3. Успадкування кількості насінин на одну рослину у гібридів F₁ гороху, 2011р.

Комбінація	Кількість насінин на одну рослину, шт.			Ступінь фенотипового домінування (hr)
	♀	F ₁	♂	
	x ± S x			
Ефектний/Світязь	24,8±0,42	67,9±1,02	42,2±1,10	3,94
Харді/Світязь	22,4±0,61	73,0±1,75	42,2±0,84	4,10
Харді/Ефектний	22,4±0,65	22,0±0,68	24,8±0,62	-1,35
Вінець/Світязь	46,4±1,81	52,3±1,93	42,2±1,39	3,80
Вінець/Ефектний	46,4±2,00	50,0±1,35	24,8±0,84	1,33
Вінець/Харді	46,4±1,39	47,5±1,19	22,4±0,67	1,09
Харківський еталонний/Світязь	16,3±0,34	42,8±1,11	42,2±1,27	1,04
Харківський еталонний/Ефектний	16,3±0,41	24,8±0,64	24,8±0,60	1,00
Харківський еталонний/Харді	16,3±0,41	26,1±0,73	22,4±0,72	2,21
Харківський еталонний/Вінець	16,3±0,49	17,2±0,55	46,4±1,39	-0,94

Як видно з даних таблиці 3, у семи комбінацій з десяти при успадкуванні ознаки «кількість насінин на одну рослину» спостерігалось позитивне наддомінування (Ефектний/Світязь (hr = 3,94), Харді/Світязь (hr = 4,10), Вінець/Світязь (hr = 3,80), Вінець/Ефектний (hr = 1,33), Вінець/Харді (hr = 1,09), Харківський еталонний/Світязь (hr = 1,04) і Харківський еталонний/Харді (hr = 2,21)). В одній комбінації було відмічене повне позитивне домінування (Харківський еталонний/Ефектний (hr = 1,00)), в одній – негативне домінування (Харківський еталонний/Вінець (hr = -0,94)) і в одній – гібридна депресія ((Харді/Ефектний (hr = -1,35)).

Маса насіння з однієї рослини є основною ознакою в структурі індивідуальної зернової продуктивності рослини. Рівень прояву даної ознаки залежить від багатьох елементів, кожен з яких має свій характер успадкування і розмах мінливості. Разом з кількістю рослин на одиниці площі дана ознака детермінує рівень врожайності сорту.

Результати аналізу характеру успадкування ознаки, «маса насіння з однієї рослини» в експериментальному матеріалі наведені в табл. 4.

Як свідчать показники ступеня фенотипового домінування, в шести комбінаціях з десяти успадкування маси насіння з однієї рослини у гібридів гороху відбувалося за типом позитивного наддомінування (гетерозису) (Харді / Сві-

тязь (hr = 2,48), Вінець / Світязь (hr = 37,0), Вінець / Ефектний (hr = 1,15), Вінець / Харді (hr = 1,13), Харківський еталонний / Світязь (hr = 1,27) і Харківський еталонний / Харді (hr = 14,0)). В двох комбінаціях спостерігався проміжний тип успадкування (Ефектний / Світязь (hr = 0,00) і Харківський еталонний / Ефектний (hr = 0,33)), в одній – негативне домінування (Харківський еталонний / Вінець (hr = -0,93)) і в одній – гібридна депресія (Харді / Ефектний (hr = -1,00)).

Показник ступеня фенотипового домінування не дає підстав судити про значення ефекту гетерозису – він лише визначає характер прояву досліджуваної ознаки: його значення суттєві лише в межах 1,1 – (-1,1). Більш об'єктивну оцінку успадкування ознаки можна отримати шляхом обчислення ступеню гетерозису за окремими формулами.

Ступінь гетерозису (Г), який визначали шляхом порівняння гібрида першого покоління з кращою батьківською формою для кількісних ознак у гібридів гороху F₁, наведено в табл. 5. Прояв гетерозису за всіма ознаками, які досліджувалися, спостерігався в комбінації Харді / Світязь (за ознакою «кількість плодоносних вузлів стебла» – 1,8 %, «кількість бобів на одну рослину» – 4,2 %, «кількість насінин на одну рослину» – 72,8 % і «маса насіння з однієї рослини» – 42,2 %).

Таблиця 4. Успадкування маси насіння з однієї рослини у гібридів F₁ гороху, 2011 р.

Комбінація	Маса насіння з однієї рослини, г			Ступінь фенотипового домінування (hr)
	♀	F ₁	♂	
	x ± S x			
Ефектний / Світязь	6,7±0,13	8,8±0,16	10,9±0,31	0,00
Харді / Світязь	4,7±0,13	15,5±0,40	10,9±0,25	2,48
Харді / Ефектний	4,7±0,15	4,7±0,15	6,7±0,18	-1,0
Вінець / Світязь	10,8±0,44	12,7±0,36	10,9±0,28	37,0
Вінець / Ефектний	10,8±0,50	11,1±0,31	6,7±0,24	1,15
Вінець / Харді	10,8±0,33	11,2±0,30	4,7±0,16	1,13
Харківський еталонний / Світязь	4,9±0,12	11,7±0,33	10,9±0,34	1,27
Харківський еталонний / Ефектний	4,9±0,13	6,1±0,17	6,7±0,18	0,33
Харківський еталонний / Харді	4,9±0,14	6,2±0,19	4,7±0,16	14
Харківський еталонний / Вінець	4,9±0,16	5,1±0,17	10,8±0,36	-0,93

Найвищий рівень гетерозису за ознакою «кількість плодоносних вузлів стебла» був відмічений в комбінації Харківський еталонний / Світязь (42,9 %), за ознакою «кількість бобів на одну рос-

лину» – Харківський еталонний / Харді (52,6 %), за ознакою «кількість насінин на одну рослину» Харді / Світязь (72,8 %) і за ознакою «маса насіння з однієї рослини» – Харді / Світязь (42,2 %).

За основною ознакою зернової продуктивності рослини гороху «маса насіння з однієї рослини» гетерозис спостерігався у шести комбінаціях з десяти (60 %) – Харді / Світязь (42,2 %),

Харківський еталонний / Харді (hr = 26,5 %), Вінець / Світязь (16,5 %), Харківський еталонний / Світязь (7,3 %), Вінець / Харді (3,7 %) і Вінець / Ефектний (2,8 %).

Таблиця 5. Прояв гетерозису у гібридів F₁ гороху за основними господарсько-цінними ознаками, %, 2011 р.

Комбінація	Кількість продоносних вузлів стебла	Кількість бобів на одну рослину	Кількість насінин на одну рослину	Маса насіння з однієї рослини
Ефектний / Світязь	-7,1	-3,1	60,7	-19,3
Харді / Світязь	1,8	4,2	72,8	42,2
Харді / Ефектний	-5,3	-31,3	-11,3	-29,9
Вінець / Світязь	-14,3	-1,0	12,6	16,5
Вінець / Ефектний	29,2	22,0	7,6	2,8
Вінець / Харді	10,4	11,0	2,3	3,7
Харківський еталонний / Світязь	42,9	11,5	1,3	7,3
Харківський еталонний / Ефектний	28,9	0,0	0,0	-9,0
Харківський еталонний / Харді	-3,1	52,6	16,4	26,5
Харківський еталонний / Вінець	-58,3	-56,0	-62,9	-52,8

Висновки

Високопродуктивні сорти гороху різних морфотипів є цінними джерелами господарсько-цінних ознак при використанні їх в селекційних програмах. Це дозволить в майбутньому створити нові більш продуктивні сорти з високим рів-

нем адаптивності і толерантності до несприятливих факторів навколишнього природного середовища, які характеризуватимуться придатністю до вирощування за сучасними інтенсивними технологіями.

Література

1. Вавилов Н.И. Селекция как наука // Генетика и селекция: избр. соч. – М.: «Колос», 1966. – С. 164–175.
2. Ермантраут Р.Е., Присяжнюк О.І. Прогнозування фенотипової продуктивності гороху // Корми і кормовиробництво. – 2008. – № 62. – С. 15–24.
3. Методика Державного сортопробування сільськогосподарських культур. – Київ, 2001. – Вип. 2. – 68 с.
4. Коллекция мировых генетических ресурсов зерновых бобовых ВИР: пополнение, сохранение и изучение / Методические указания. – Санкт-Петербург: ВИР, 2010. – 141 с.
5. Griffing B. Analysis of quantitative gene-action by constant parent regression and related techniques // Genetics. – 1950. – Vol. 35. – P. 303–321.
6. Beil G.M., R.E. Atkins Inheritance of quantitative characters in grain sorghum // Iowa State Journal. – 1965. – № 39. – P. 3.
7. Гужов Ю.Л., Фукс А., Валичек П. Селекция и семеноводство культурных растений. – М.: Агропромиздат, 1991. – 463 с.

MAMALYGA V.S.¹, KONDRATENKO M.I.², BUHAYOV V.D.², YANCHUK V.I.¹

¹ Vinnytsia National Agrarian University

² Podillia Institute of Forage and Agriculture NAAS (National Academy of Agrarian Sciences) Ukraine, 21008, Vinnytsia, Sonyachna str., 3, e-mail: stepanovich1@yandex.ru

ANALYSIS OF INHERITANCE OF SOME PEA QUANTITATIVE CHARACTERISTICS

Aims. The character of inheritance of plants height, quantity of beans on a plant, bulk of seeds per plant and quantity of seeds per one bean in the F₁ hybrids of pea was researched. **Methods.** 5 different varieties of pea were crossed under the accredited method and indications of hybrids productivity in comparison with parents forms were analyzed. **Results.** It is determined that the inheritance of researched characteristics is controlling

by additive and dominant system of genes with predominating both additive and nonadditive genes, that gives the opportunity to recommend the selection of perspective plants in early generations. **Conclusions.** Researched varieties of pea are valuable sources of high productivity characteristics in their use in the selection programs for creation of new high productive varieties suitable to growing under modern intensive technologies.

Key words: pea, variety, hybrid, inheritance, seed, gen, selection.

МИХАЙЛОВА М.Е., БЕЛАЯ Е.В., ТИХАНОВИЧ Н.И., ХОТЛЯНИК Н.В.

Институт генетики и цитологии НАН Беларуси

Республика Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: M.Mikhailova@igc.bas-net.by

ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ СЕЛЕКЦИОННОГО ПОГОЛОВЬЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ГОЛШТИНСКОЙ И БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОД ПО ГЕНУ ПРОЛАКТИНА (*bPRL*)

Повышение молочной продуктивности является одним из приоритетных направлений современной селекции крупного рогатого скота. Для получения животных с желательными признаками традиционная селекция пользуется данными фенотипа, поэтому такой селекционный процесс занимает значительный промежуток времени, особенно для животных с длительным генерационным периодом, таких как крупный рогатый скот, козы, овцы. Повысить скорость, точность и эффективность традиционной селекции в настоящее время помогает маркер-сопутствующая селекция (MAS – marker assisted selection). Эта новейшая селекционная технология сочетает информацию о генетических маркерах (маркерных точках генотипа (marker loci)), связанных с участками генома, отвечающими за развитие количественных признаков (QTL – quantitative trait loci), с данными об их реализации в фенотипе. Поиск генетических маркеров молочной продуктивности для крупного рогатого скота в настоящее время ведется среди полиморфных вариантов гена пролактина (*bPRL*), который принимает значительное участие в регуляции процессов роста и лактации.

Пролактин, как и гормон роста, относится к одному и тому же семейству белковых гормонов, которые принимают участие в инициации и поддержании лактации у млекопитающих. Ген пролактина у крупного рогатого скота локализо-

ван на хромосоме 23 и содержит 5 экзонов и 4 интрона. Его транскрипция регулируется двумя независимыми промоторными регионами: проксимальный контролирует гипофизарно-специфическую экспрессию, в то время как дистальный отвечает за экстрагипофизарную экспрессию гена. Гормон пролактин (PRL) продуцируется лактотрофами – клетками передней доли гипофиза, а также в различных тканях, включая эндотелиальные клетки, нейроны, клетки молочной железы и др. [1].

Для гена пролактина (*bPRL*) крупного рогатого скота было выявлено несколько аллелей, обусловленных полиморфизмом нуклеотидной последовательности. В основном, они вызваны мутациями, определяемыми методом ПЦР ПДРФ и SSCP без расшифровки их природы и локализации. В настоящее время в качестве маркера молочной продуктивности крупного рогатого скота достаточно широко в MAS-селекции применяется полиморфизм нуклеотидной последовательности гена *bPRL*, связанный с молчащей трансверсией А→G в третьем экзоне [2].

В связи с вышеизложенным, нами была проведена оценка выборок крупного рогатого скота голштинской и белорусской черно-пестрой пород по аллельным вариантам гена пролактина.

Материалы и методы.

Объект исследования – быкопроизводящие коровы двух пород молочного направления, составляющих основное поголовье Республики Беларусь: голштинской и белорусской черно-пестрой. Материал исследования – образцы ДНК, выделенной из крови животных голштин-

ской (n = 109), а также белорусской черно-пестрой пород (n = 296).

Определение генотипов животных осуществлялось методом ПЦР-ПДРФ. Для амплификации фрагмента гена *bPRL* используют праймеры RsaI-F и RsaI-R. [2] (RsaI-F: 5'-

gctccagaagtctgttttc-3' и RsaI-R: 5'-cgagcttatgagcttgattctt-3').

ПЦР проводят в амплификаторе в конечном объеме 2 мкл в следующем режиме: «горячий старт» – 3 мин 94°C. Затем 35 циклов амплификации в режиме: 94°C – 1 мин- денатурация; 62°C – 1 мин – отжиг праймеров; 72°C – 1,5 мин – синтез. Элонгация 5 мин при 72°C.

Анализ полиморфизма длин рестриционных фрагментов включал обработку амплификата сайт-специфической рестриктазой и последующее разделение полученных фрагментов с помощью гель-электрофореза. Идентификация полиморфизма нуклеотидной последовательности гена *bPRL* в экзоне 3 проводился с помощью рестриктазы *RsaI* (рис.).

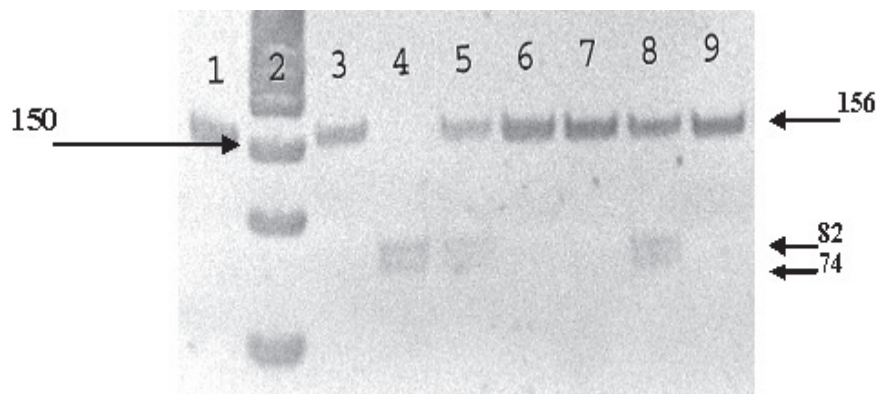


Рис. Электрофореграмма ДНК-типирования полиморфизма *bPRL* – *RsaI*

Примечания: Дорожка 1 – ПЦР – продукт 156 п.н. фрагмента гена *bPRL*-*RsaI*; дорожка 2 – маркер молекулярных масс O’Range Ruler™ 50 bp DNA Ladder, Fermentas, Литва; дорожки 3, 6, 7, 9 – фрагмент рестрикции 156 п.н., соответствующий генотипу *bPRL*-*RsaI*^{AA}; дорожка 4 – фрагменты рестрикции 82 и 74 п.н., соответствующие генотипу *bPRL*-*RsaI*^{BB}; дорожки 5, 8 – фрагменты рестрикции 156, 82 и 74 п.н., соответствующие генотипу *bPRL*-*RsaI*^{AB}. Положение на геле специфических полос показано стрелками. Электрофорез проводили в 2 % агарозном геле (SeaKem LE Agarose, Lonza, США).

Полиморфизм *bPRL*-*RsaI* обусловлен молчащей трансверсией А→G, соответствующей 103-му положению аминокислотной последовательности белка. Сайтом узнавания для рестриктазы *RsaI* является последовательность GT↓AC. Рестриктаза разрезает ампликат, содержащий нуклеотид А. Такой аллель обозначен как *bPRL*-*RsaI*^B. В случае присутствия G нуклеотида сайт рестрикции исчезает, такой аллель обозначен как *bPRL*-*RsaI*^A [2]. Длина амплифицируемого фрагмента составляет 156 нуклеотидов. Длина фрагментов после рестрикции составляет 82 и

74 п.н. На электрофореграмме могут быть визуализированы варианты полос определенной длины, характерные для генотипов: одна полоса 156 п.н. (генотип *bPRL*-*RsaI*^{AA}); две полосы 82 и 74 п.н. (генотип *bPRL*-*RsaI*^{BB}); три полосы – 156, 82 и 74 п.н. (*bPRL*-*RsaI*^{AB}).

Сравнение выборок по распределению частот аллелей гена *bPRL*, а также оценку соответствия фактического распределения генотипов теоретически ожидаемому по закону Харди-Вайнберга, проводили с помощью с помощью критерия χ^2 .

Результаты и обсуждение.

На первом этапе исследования нами были определены частоты встречаемости аллелей и генотипов *bPRL* в обеих выборках. Результаты оценки различий распределения относительных частот аллелей гена пролактина в популяции голштинского и белорусского черно-пестрого скота приведены в табл. 1.

По данным, приведенным в табл. 1, можно отметить, что для обеих пород редким является аллель *bPRL*-*RsaI*^B [3, 4]. Значимых различий в распределении относительных частот аллелей

гена пролактина в популяции голштинского и белорусского черно-пестрого скота не выявлено. Данные, полученные нами, находятся в пределах частот, наблюдаемых другими авторами: у коров черно-пестрой породы соотношение частот аллелей *bPRL*-*RsaI*^A и *bPRL*-*RsaI*^B 0,11–0,29 и 0,71–0,89. По данным Chrenek et al., у коров голштинской породы частота аллелей *bPRL*-*RsaI*^A и *bPRL*-*RsaI*^B составила 0,95 и 0,05 соответственно [5–8].

Таблица 1. Распределение относительных частот аллелей гена пролактина в популяции голштинского и белорусского черно-пестрого скота ($Q \pm S_0$)

Аллель	Наблюдаемые частоты аллелей		Относительные частоты аллелей		P
	Голштинская порода	Черно-пестрая порода	Голштинская порода	Черно-пестрая порода	
<i>bPRL-RsaI^B</i>	23	72	0,11±0,02	0,12±0,01	0,527
<i>bPRL-RsaI^A</i>	195	520	0,89±0,02	0,88±0,01	

Примечание. Различие между породами значимо при $P < 0,05$.

Нами было проанализировано также соответствие распределения генотипов теоретически ожидаемому, по закону Харди-Вайнберга, среди животных белорусской черно-пестрой и голштинской пород. Полученные данные представ-

лены в табл. 2, из которой видно, что по данному полиморфизму обе популяции находятся в состоянии генетического равновесия. В обоих случаях отмечается соответствие наблюдаемых частот генотипов теоретически ожидаемому.

Таблица 2. Распределение частот генотипов по гену пролактина в белорусских популяциях голштинского и белорусского черно-пестрого крупного рогатого скота

Поли-морфизм	Генотип	Голштинская порода (n=109)			Белорусская черно-пестрая порода (n=296)		
		n наблюдаемое	n ожидаемое	P	n наблюдаемое	n ожидаемое	P
<i>bPRL-RsaI</i>	<i>bPRL-RsaI^{BB}</i>	1	1	1,000	3	4	0,819
	<i>bPRL-RsaI^{AB}</i>	21	21		66	63	
	<i>bPRL-RsaI^{AA}</i>	87	87		227	228	

Примечание. Отклонение наблюдаемых частот генотипов от теоретически ожидаемых по закону Харди-Вайнберга значимо при $P < 0,05$.

Выводы

На основании проведенных исследований установлено:

- во-первых, для обеих исследованных выборок редким является аллель *bPRL-RsaI^B*;
- во-вторых, распределение частот аллелей гена пролактина в популяциях голштинской и белорусской черно-пестрой породы не различа-

ется;

в-третьих, распределение частот генотипов по гену пролактина в белорусских популяциях голштинского и белорусского черно-пестрого крупного рогатого скота соответствует теоретически ожидаемым по закону Харди-Вайнберга.

Литература

1. Crenshaw E.B. Cell – specific expression of the prolactin gene in transgenic mice is controlled by synergistic interactions between promoter and enhancer elements / E.B. Crenshaw [et al.] // Genes and Develop. – 1989. – Vol. 3, №7. – P. 959–972.
2. Udina I.G. et al. Polymorphism of bovine prolactin gene, microsatellites, PCR–RFLP // Russian J. Genet. – 2001. – №4. – P. 407–411.
3. Беляя Е.В. Внутрипородный анализ генетической структуры популяций крупного рогатого скота черно-пестрой породы белорусского разведения по полиморфным вариантам генов соматотропинового каскада / Е.В. Беляя, М.Е. Михайлова, Н.М. Волчок, Н.И. Тиханович // Молекулярная и прикладная генетика: сб. науч. тр. – 2010. – Т. 11. – С. 92–98.
4. Беляя Е.В. Сравнительный анализ генетической структуры белорусских популяций крупного рогатого скота черно-пестрой и голштинской пород по полиморфным вариантам генов соматотропинового каскада (*bPit-1*, *bPRL*, *bGH*, *bGHR* и *bIGF-1*) / Е.В. Беляя, М.Е. Михайлова, Н.М. Волчок // Молекулярная и прикладная генетика: сб. науч. тр. – 2011. – Т. 12 – С. 108–114.
5. Chrenek A., et al. Simultaneous analysis of bovine growth hormone and prolactin alleles by multiplex PCR and RFLP // Czech J Anim Sci. – 1998. – Vol. 43, № 2. – P. 53–55.

6. Skinkytė R. Distribution of Allele Frequencies Important To Milk Production Traits In Lithuanian Black & White And Lithuanian Red Cattle / R. Skinkytė [et al.] // Veterinaria In Zootechnika. – 2005. – Vol. 31, №3. – P. 93–97.
7. Miceikienė I. et al. Association of cattle genetic markers with performance traits // Biologia. – 2006. – № 1. – P. 24–29.
8. Brym A.E. et al. Effect of New SNP Within Bovine Prolactin Gene Enhancer Region on Expression in the Pituitary Gland // Biochem. Genet. – 2007. – Vol. 45, №9–10. – P. 743–754.

MIKHAILOVA M.E., BELAYA YE.V., TIKHANOVICH N.I. KHOTLYANIK N.V.

Institute of Genetics and Cytology at NASB

e-mail: M.Mikhailova@igc.bas-net.by

CHARACTERIZATION OF GENETIC STRUCTURE OF CATTLE BREEDING LIVESTOCK OF HOLSTEIN AND BELORUSSIANWHITE-AND-BLACK CATTLE FOR PROLACTIN GENE (bPRL)

Aims. Estimate the frequency of alleles of prolactin gene in the two groups cattle of Holstein and black-and-white breed.

Methods. The method of PCR-RFLP was used. **Results.** The frequencies of *bPRL-RsaI^A* and *bPRL-RsaI^B* alleles of prolactin gene were determined in the two groups cattle of Holstein and black-and-white breed.

Conclusions. Evaluation of conformity observed genotype frequencies with expected genotype frequencies according to Hardy-Weinberg equilibrium. Found that the *bPRL-RsaI^B* allele is a rare in both the studied group. The distribution of allele frequencies of prolactin gene in both populations did not differ. The observed genotype frequencies correspond to the theoretically expected by the Hardy-Weinberg equilibrium.

Key words: prolactin gene, prolactin hormone, cattle, Holstein cattle, black-and-white breed.

**МОЦНИЙ І.І.¹, КУЛЬБИДА М.П.², ЗАМБРИБОРЩ І.С.¹, ЛОБАНОВА Е.І.¹,
ЧЕБОТАРЬ Г.А.¹, ЧЕБОТАРЬ С.В.¹, БОЙКО М.С.¹**

¹ *Селекційно-генетический институт – Національний центр семеноводства и стоизучения НААНУ*

Украина, 65036, г. Одесса, Овидиопольская дорога, 3, e-mail: motsnyyii@gmail.com

² *ГУ «Институт глазных болезней и тканевой терапии им. В.П. Филатова АМНУ»*

Украина, 65061, г. Одесса, Французский бульвар, 49/51

ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ АНДРОГЕНЕЗА *IN VITRO* НА ПРИЗНАКИ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ПШЕНИЦЫ

В настоящее время применение удвоенных гаплоидов всё шире входит в отечественную селекционную практику. Однако, влияние культуральных факторов на некоторые агрономически ценные признаки пшеницы неоднозначно в первых поколениях *ex vitro*, что может существенно исказить оценку селекционного материала и привести к элиминации ценных комбинаций генов при выбраковке материала на ранних этапах селекционного процесса. Для анализа последствий проведения генотипов через культуру *in vitro*, в отношении количественных признаков, которые имеют полигенную де-

терминацию, высокую средовую дисперсию и сильно коррелируют между собой, необходимы методы многомерного статистического анализа, в частности – дискриминантный анализ.

Цель работы – проанализировать связь между фактором андрогенеза *in vitro* в культуре пыльников и количественными признаками растений озимой пшеницы, различных по генам короткостебельности; оценить информативность комплекса признаков для дискриминации линий-дигаплоидов и исходных форм в зависимости от года репродукции в поле.

Материалы и методы

Материал исследования – короткостебельные аналоги двух известных сортов озимой пшеницы селекции СГИ – НЦСС (г. Одесса): Кооператорка К-70 (КК70), Кооператорка К-90 (КК90), Одесская 3 К-75 (Од.3К75), а также сорт

Одесская 51 (Од. 51). Для получения удвоенных гаплоидов отбирали колосья донорных растений с пыльниками, микроспоры которых находились на вакуолизированной стадии развития. Предобработку и стерилизацию материала проводили

по общепринятой методике [1]. Изолированные пыльники высаживали на среду для индукции новообразований – 190-2 в модификации [2], и культивировали 3 суток при температуре 30°C, затем при 24°C до появления новообразований. Сформировавшиеся макроструктуры в дальнейшем культивировали на модифицированной среде MS [1] при 16 часовом фотопериоде. Зелёные регенеранты пересаживали на безгормональную среду MS, яровизировали и доращивали в условиях искусственного климата до семян. Семена с каждого фертильного побега собирали отдельно. Потомство каждого растения-регенеранта считалось самостоятельной линией и изучалось индивидуально. Полученные в результате спонтанного удвоения хромосом дигаплоиды выращивали в поле в 2010 и 2011 годах (поколения D₁ и D₂). Растения урожая 2011 г. выращивали из семян дигаплоидов предыдущего года, полученных в полевых условиях. При этом исходные формы (P), из которых были по-

лучены дигаплоиды, в обоих вариантах опыта (P₁, P₂) выращивались из семян, полученных в полевых условиях.

У всех растений измеряли комплекс признаков, традиционный в селекционной практике: длина соломины (ДС), число побегов в первом (ПК₁) и во втором ярусе (ПК₂), продуктивная кустистость (ПК); длина колоса (ДК), число колосков в колосе (ЧКК), число зерен в колосе (ЧЗК), число зерен в колоске (ЧЗк), масса зерна главного колоса (МЗК); число зерен с подгонов (ЧЗП), масса зерна с подгонов (МЗП). По имеющимся измерениям рассчитывали массу 1000 зерен (МТЗ) с растения. Идентификацию аллелей генов короткостебельности проводили методом ПЦР [3]. Для оценки последствий культуральных факторов на комплекс агрономических признаков и информативность каждого из них применяли пошаговую процедуру линейного дискриминантного анализа с включениями (Forward stepwise).

Результаты и обсуждение

В силу высокой взаимной коррелированности признаков для эффективного различения групп исходных и полученных из них растений-дигаплоидов в оба года исследования оказалось достаточно одной дискриминантной функции. Наиболее информативными оказались признаки ДС, ДК, ЧКК; наименее информативны – продуктивная кустистость и её составляющие (ПК₁, ПК₂), а также ЧЗк (табл. 1). В то же время вариация МТЗ не имела никакого отношения к последствиям андрогенеза, а зависела исключительно от генотипа линии, главным образом, по генам *Rht* или условий года (не показано). К то-

му же, информативность признаков менялась в зависимости от линии и поколения дигаплоидов. При этом, если в линии Од.3К75 (аллельный состав генов короткостебельности – *Rht8c Rht-B1b*) исходные и дигаплоидные формы чётко дискриминируются (рис. 1, а, табл. 2), то в линиях КК70 (*Rht8c Rht-B1e*), КК90 (*Rht8c Rht-B1a*) и Од.51 (*Rht8c Rht-B1a*) в данном пространстве признаков полностью отделить исходные формы от дигаплоидов не удаётся. При значительной внутриклассовой дисперсии расстояние между дискриминируемыми классами слишком мало, хотя и статистически значимо (рис. 1, б, табл. 2).

Таблица 1. Информативность признаков для классификации линий по отношению к культуре *in vitro* по величине F_{факт.}

При- знак	D ₁ (2010 г.)				D ₂ (2011 г.)			
	КК70	КК90	Од.3К75	Од.51	КК70	КК90	Од.3К75	Од.51
ПК ₁	0,0	0,0	3,1	0,0	0,0	1,5	0,1	2,6
ПК ₂	0,1	3,7	0,0	0,6	0,0	0,1	0,7	0,3
ПК	0,2	1,8	0,0	0,1	0,2	5,8*	0,5	6,6*
ДС	6,8*	6,6*	9,9**	1,9	7,7**	6,5*	11,3**	28,2***
ДК	0,1	10,6**	6,4*	2,4	0,3	0,1	16,2***	0,7
ЧКК	8,8**	0,8	5,1*	5,4*	0,0	0,0	27,7***	2,5
ЧЗК	4,9*	0,5	8,7**	0,9	5,3*	0,3	0,0	0,6
ЧЗк	2,7	0,8	3,2	0,9	0,0	2,3	0,0	2,6
МЗК	0,2	1,6	5,3*	0,0	0,0	0,4	8,4**	9,1**
ЧЗП	1,3	0,0	0,0	0,0	8,5**	8,1**	0,1	3,0
МЗП	3,2	4,3*	0,1	0,1	0,5	1,0	0,1	0,1

Примечания: * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001 (жирным шрифтом отмечены значения признаков, вошедших в модель).

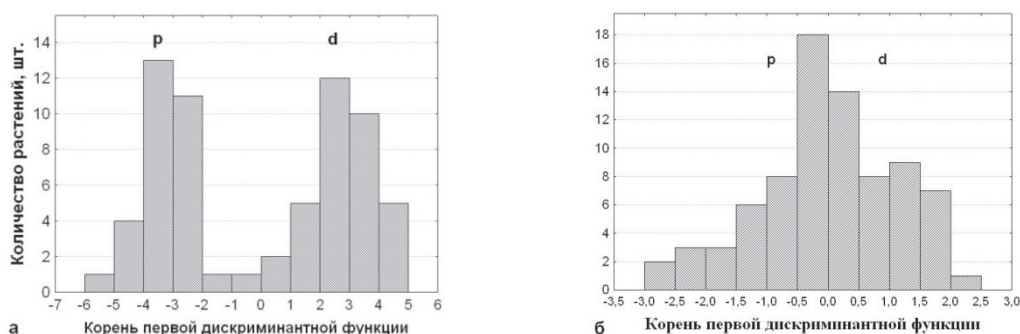


Рис. 1. Диаграмма рассеяния на оси первой дискриминантной функции множества растений исходных форм (**p**) и дигаплоидов (**d**):
 а) Од.51К-75, 2011 г.; $Y=25,104+0,832*MЗК-0,709*ЧКК-1,043*ДК-0,081*ДС$;
 б) КК-70, 2011 г.; $Y=2,985+0,152*ДС-0,064*ЧЗП-0,069*ЧЗК$

Таблица 2. Расстояния между классами линий, в зависимости от их отношения к процессу андрогенеза *in vitro* (исходные формы-дигаплоиды)

Линия	D ₁ (2010 г.)			D ₂ (2011 г.)		
	λ Уилксона	Квадрат расстояния Махаланобиса	F	λ Уилксона	Квадрат расстояния Махаланобиса	F
КК70	0,5	4,4	8,1***	0,8	1,2	7,5***
КК90	0,6	2,7	7,0***	0,8	1,1	4,0**
Од.3К75	0,2	26,3	12,5***	0,1	36,4	140,5***
Од.51	0,6	4,1	7,0**	0,6	2,9	6,2***

Примечания: ** P<0,01; *** P<0,001

Как видно (табл. 3), дискриминантная модель хорошо классифицирует растения генотипа *Rht8c Rht-B1b* (Од.3К75). Однако, информации, заключённой в данном наборе признаков, традиционно используемых в селекционной прак-

тике, недостаточно для надёжного различения растений с аллелями *Rht8c Rht-B1a* и *Rht8c Rht-B1e* (табл. 3, рис. 1, б), особенно во вторую генерацию (D₂).

Таблица 3. Матрица классификации дискриминантной модели

Линия (генотип)	Наблюдаемый класс *	D ₁ (2010 г.)			D ₂ (2011 г.)		
		Предсказано		% правильно предсказанных растений	Предсказано		% правильно предсказанных растений
		p	d		p	d	
КК70	p	30	4	88,2	19	14	57,6
(<i>Rht8c Rht-B1e</i>)	d	5	14	73,7	8	38	82,6
КК90	p	32	9	78,0	31	11	73,8
(<i>Rht8c Rht-B1a</i>)	d	7	22	75,9	12	25	67,6
Од.3К75	p	26	0	100,0	31	0	100,0
(<i>Rht8c Rht-B1b</i>)	d	0	5	100,0	0	34	100,0
Од.51	p	23	2	92,0	18	8	69,2
(<i>Rht8c Rht-B1a</i>)	d	2	5	71,4	6	38	86,4

Примечания: * **p** – исходные формы; **d** – дигаплоиды.

На данном ограниченном материале нельзя сделать однозначный вывод об источнике вариации комплекса изученных признаков, маскирующем влияние процедуры получения дигаплоидов указанных генотипов. Одним из таких источников может быть многообразие линий-дигаплоидов, полученных из одной исходной

формы. Другими – невыравненность фона вируса желтой карликовости ячменя, эпифитотии которого наблюдались в годы проведения исследований, или генетический фон линий (genetic background), в частности генотип по *Rht* генам, проявление которого на фоне последующего процесса андрогенеза определяется неодно-

значно, в зависимости от комбинации этих генов, силы их эффектов, а также селекционной ценности. Относительно последней известно, что генотип *Rht8c Rht-B1a* детектируется, преимущественно, у среднерослых сортов и линий с приемлемой урожайностью в неблагоприятных условиях выращивания. На высоких агрофонах он существенно увеличивает урожайность озимой пшеницы, так как повышает плотность и продуктивность колоса, а также устойчивость к полеганию. При этом не наблюдается каких-либо отличий от генотипов с другими аллелями гена *Rht8* (как например, *Rht8a, b, x*) по продуктивной кустистости растения, числу зёрен с главного колоса и МТЗ [4]. В настоящее время доля генотипов *Rht8c Rht-B1a* в наборе сортов СГИ – НЦСС невелика.

Добавление аллеля *Rht-B1b* к *Rht8c* ведёт к некоторому уменьшению высоты и кустистости растений, а также снижает продуктивность главного колоса и МТЗ, но способствует повышению продуктивности подгонов и урожайности растения в целом [5]. Этот генотип характерен для значительной части современных сортов селекции СГИ – НЦСС. Генотип *Rht8c Rht-B1e* сильнее сокращает длину стебля, снижает устойчивость к болезням, показатели продуктивности и качества зерна [5]. Этот генотип практически не встречается в ассортименте современных сортов СГИ – НЦСС.

Вызывает вопросы причина таких значительных различий между растениями исходной линии Од.3К75 и полученной из нее линии дигаплоидов Од.3К75D (рис. 1 а, табл. 2, табл. 3). Исходя из средних значений признаков (не по-

Выводы

Процесс андрогенеза *in vitro* оказывает влияние на получаемые растения, однако это влияние неоднозначно. Для генотипов *Rht8c Rht-B1e* и особенно *Rht8c Rht-B1b* показано статистически значимое снижение отдельных показателей линий-дигаплоидов по сравнению с исходными линиями в первые два года после культуры. Исходные линии и их спонтанно удвоенные гаплоиды наиболее существенно различались по

казано) можно предположить, что линия Од.3К75D имеет генотип *Rht8c Rht-B1e*. Предположительно, линия Од.3К75D образовалась из генетически отличной микроспоры или в процессе мутации под влиянием условий образования дигаплоидов. Хотя более вероятным представляется получение дигаплоидов этой линии из пыльников, принадлежавших исходной форме с релевантным генотипом в результате более тривиальных причин, как-то генетическое засорение материала при посеве, в результате перепыления, при подборе колосьев для культуры или на разных этапах *in vitro*. Поскольку, для проведения через культуру пыльников брались и другие короткостебельные аналоги, и их рекуррентные формы с более широким спектром генотипов [6].

Таким образом, практическое применение андрогенеза *in vitro* в культуре пыльников может быть ограничено существенными недостатками дигаплоидов на первых этапах селекционного процесса. Особенно это касается наиболее селекционно ценного генотипа (*Rht8c Rht-B1b*) из исследованных здесь. Причиной ухудшения показателей удвоенных гаплоидов могут быть отдаленные последствия культуральных факторов как наследственные (гаметоклональная изменчивость, полное отсутствие гетерозигот во всех локусах, гомозиготизация отрицательных рецессивных мутаций), так и пролонгированные модификации (морщинистость эндосперма, недостаток питательных веществ). Поэтому, браковку линий-дигаплоидов целесообразно производить лишь после нескольких лет выращивания и тщательного изучения в полевых условиях.

признакам длина соломины и главного колоса, число колосков в главном колосе. В пространстве изученных признаков методом дискриминантного анализа наилучше различались исходные формы и дигаплоиды линии с генотипом *Rht8c Rht-B1b*. Вариация МТЗ не имела отношения к последствиям андрогенеза, а зависела от особенностей линии или условий года.

Литература

1. Ігнатова С.О., Жосонар М.В., Шестопап О.Л. та інші. Отримання подвоєних гаплоїдів м'якої пшениці в культурі піяків. Методичні рекомендації / Півден. біотенолог. центр в рослин-ві УААН. – Одеса, 2008. – 12 с.
2. Лобанова К.І., Жосонар М.В., Ігнатова С.О. Шляхи реалізації регенераційного потенціалу в культурі піяків у різних генотипів озимої м'якої пшениці // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. – 2006. – Т. 4, № 1. – С. 52–57.
3. Чеботарь Г.А., Чеботарь С.В., Моцный И.И. и др. Молекулярно-генетический анализ линий-аналогов мягкой пшеницы, различающихся по высоте растений // Вестник ОГУ. – 2009. – Т. 14, вып. 8. – С. 61–71.

4. Нефедов А.В. Прогресс селекции озимой пшеницы на Юге Украины // Научн.-техн. бюл. СГИ (Одесса). – 1991. – № 1 (78). – С. 13–15.
5. Лыфенко С.Ф. Полукарликовые сорта озимой пшеницы. – Киев: Урожай, 1987. – 192 с.
6. Замбриборщ И.С., Доброва А.А., Лобанова Е.И., Моцный И.И., Бойко М.С., Чеботарь Г.А. Отзывчивость линий гексаплоидной пшеницы с *Rht* генами к андрогенезу и влияние условий получения удвоенных гаплоидов на полевые характеристики регенерантов // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия мировой флоры: междунар. конф., посв. 80-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси, 19–22 июня 2012 г.: материалы. – Минск, 2012. – Ч. 2. – С. 303–307.

MOTSNY I.I.¹, KULBIDA M.P.², ZAMBRIBORSCH I.S.¹, LOBANOVA E.I.¹, CHEBOTAR G.A.¹, CHEBOTAR S.V.¹, BOYKO M.S.¹

¹ *Plant Breeding and Genetic Institute NAASU*

Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopolskaya dor. str., 3, e-mail: motsnyyii@gmail.com

² *V.P. Filatov Institute of Eye Diseases and Tissue Therapy AMSU*

Ukraine, 65061, Odessa, French boulevard, 49/51

THE IMPACT OF ANDROGENESIS *IN VITRO* FACTORS ON WHEAT DOUBLE HAPLOID'S TRAITS

Aims. The influence of androgenesis *in vitro* factors on quantitative characters has been studied on winter bread wheat double haploids-lines differing in dwarfing genes. **Methods.** The parameters of agronomic traits of double haploids of three dwarf analogues of wheat varieties and of cultivar Odesskaya 51 have been investigated comparing to the original forms with the dwarfing gene alleles identified by PCR. **Results.** The significant differences between the parental forms and the double haploids towards height of plants, length of main spike and yield components have been established. **Conclusions.** The methods for developing of the androgenic double haploids was found to controversial change the expression of winter wheat characters depending on the specificity of lines, *Rht*-genotype, environment, and the number of generations *ex vitro*. For genotypes *Rht8c Rht-B1e* and *Rht8c Rht-B1b*, especially significant decline of the character parameters in doubled haploid lines with regard to length of stem and the main spike, number of spikelets in the ear were shown in both years, but most significantly – in the first generation. The lines with genotype *Rht8c Rht-B1b* were best discriminated in the space of studied traits. WTK variation had no relation to the androgenic effects and depended on the line peculiarities or the year conditions. The possibility of a misrepresentation of results of the selection of the breeding-valuable genotypes on account of the prolonged modification is discussed.

Key words: *Triticum aestivum*, androgenesis *in vitro*, double haploids, quantitative characters.

НОВИКОВА Т.Н.

Институт Леса им. В.Н. Сукачева СО РАН

Россия, 660036, г. Красноярск, Академгородок, д. 50, стр. 28, e-mail: liit@list.ru

КЛИМАТИПЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ИЗ ЮЖНЫХ РАЙОНОВ СИБИРИ В ГЕОГРАФИЧЕСКИХ КУЛЬТУРАХ В ЗАПАДНОМ ЗАБАЙКАЛЬЕ

Географические испытания сосны обыкновенной являются наиболее обширными среди аналогичных исследований всех лесобразующих видов – они проводятся как в Европе и Азии, так и на других континентах [1, 8]. Эти испытания выявили довольно большое число разновидностей *Pinus sylvestris* L., генетически различающихся по разным признакам [9, 13]. Лесобразующие виды являются одним из наи-

более чувствительных индикаторов изменения окружающей среды [11, 12, 16]. Поэтому материалы исследований географических культур лесобразующих видов, в том числе и сосны обыкновенной, активно привлекаются для построения пространственных моделей изменения и размещения внутривидовых таксонов в связи с перспективой изменения климата [15, 10].

Материалы и методы

Географические культуры сосны обыкновенной в Западном Забайкалье (республика Бурятия) являются частью широкомасштабного эксперимента по созданию сети географических культур основных лесобразующих видов на территории России и сопредельных стран, изучение которых ведется по единой методике. Географические культуры в Западном Забайкалье были созданы в 1979 году Институтом леса и древесины СО АН СССР. Целью исследований являлось изучение адаптации климатипов сосны в условиях резко континентального, засушливого климата в процессе взаимодействия генотип-среда.

Природно-климатические условия в Западном Забайкалье характеризуются резко континентальным климатом (табл. 1) с большими суточными и годовыми колебаниями температур, при общем дефиците выпадающих осадков [2].

Район закладки географических культур, расположен у южной границы ареала сосны обыкновенной (52° с.ш. и 110° в.д.) в характерных для лесостепи природно-климатических условиях. В географических культурах, в частности, испытывалось потомство климатипов сосны из районов Южной Сибири.

Таблица 1. Характеристика района выращивания географических культур сосны (Западное Забайкалье)

Координаты, град-мин		Период вегетации, дни	Осадки за год, мм	Континентальность, %
с.ш.	в.д.			
51–50	107–40	149	241	90

Результаты и обсуждение

В настоящей работе приводятся некоторые итоги анализа выживаемости, радиального и линейного роста климатипов сосны из лесостепных районов Южной Сибири.

Исследования обнаружили значительные различия (16–54 %) по устойчивости потомств климатипов Южной Сибири в условиях Западного Забайкалья. Между показателями выживаемости и климатическими параметрами районов их происхождения обнаружена отрицательная связь ($R = -0,77$ – с периодом вегетации), ($R = -0,71$ со – среднегодовой температурой), ($R = -0,94$ – с годовыми осадками). На

данном этапе удовлетворительно сохранившиеся потомства климатипов можно считать адаптированными к условиям Забайкалья. Показатели радиального роста климатипов сосны варьируют от 12,4 до 14,4 см. Средняя высота 37-летних потомств климатипов Восточной Сибири: Балгазынского, Заудинского, Кяхтинского и Минусинского варьирует от 8,0 до 8,5 м (табл. 2). Лидирует по линейному росту западносибирский Ракировский климатип, произрастающий на юге Алтайского края, средняя высота которого составила 11,2 м.

Таблица 2. Показатели роста лесостепных климатипов в географических культурах в Западном Забайкалье

Климатип		D _{1,3} , см	V, %	P, %	H, м	V, %	P, %
Заудинский	Бурятия	12,4±0,48	27,6	3,9	8,2±0,33	27,8	3,9
Кяхтинский	Бурятия	14,4±0,50	24,8	3,5	8,4±0,33	20,5	3,9
Минусинский	Красноярский	13,2±0,51	27,2	3,2	8,5±0,27	16,1	3,2
Балгазынский	Тыва	14,1±0,78	30,5	5,5	8,0±0,34	22,5	4,2
Ракировский	Алтай	14,4±0,51	19,0	3,6	11,2±0,64	22,2	5,5

Наряду с показателями устойчивости и роста [4, 5] в течение нескольких лет изучалась изменчивость годичного прироста сосны разного географического происхождения [6]. Анализ показателей прироста в высоту в отдельные, контрастные по гидротермическому режиму периоды вегетации позволил оценить темпы роста

климатипов сосны в связи с флуктуацией погодных факторов и реакцию на стресс, вызванный дефицитом влаги (рис.).

На величину линейного прироста в наибольшей степени оказывают влияние осадки июня, так как в этом месяце происходит наиболее интенсивный вегетативный рост деревьев.

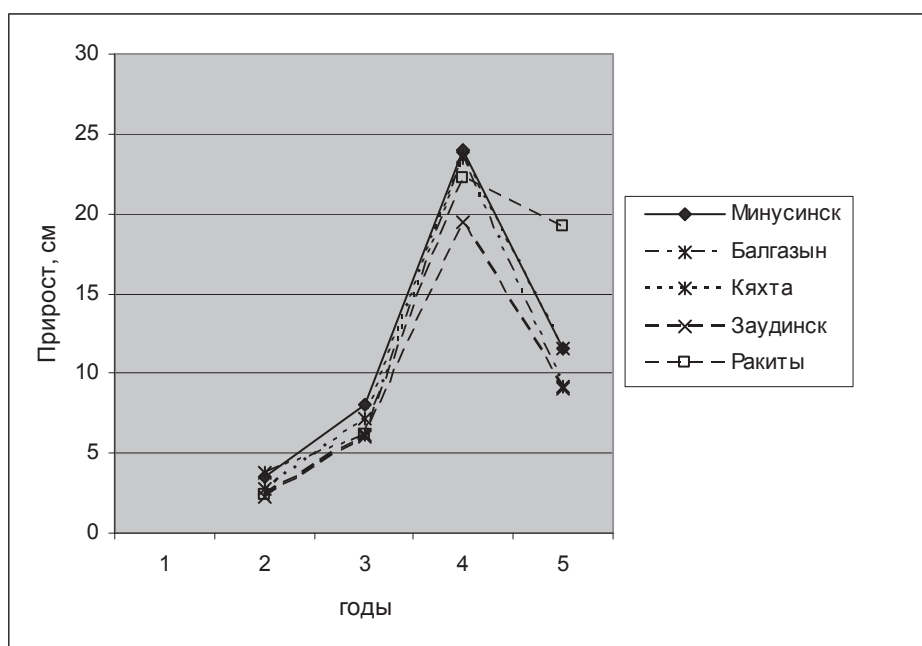


Рис. Линейный прирост потомств климатипов сосны: 1. – 1979 г – год посадки, 2–1980 г, 3–1981 г, 4–1985 г, 5–1990 г.

В динамике сезонного роста в высоту для всех климатипов сосны характерны резкие спады, обусловленные засушливыми условиями периода вегетации, и подъемы в наиболее благоприятные по влагообеспеченности годы. Так, минимальные показатели прироста сосны (рис.) были зафиксированы в засушливом 1980 году, когда наряду с малым количеством осадков в мае (15,9 мм), острым дефицитом влаги в июне (3,1 мм) отмечалась повышенная теплообеспеченность данного месяца, близкая к аналогичному показателю июля (20° С).

На примере 2 лет показано, что амплитуда изменчивости линейного прироста потомств в группе климатипов наиболее велика в экстремальные по увлажнению периоды вегетации, так коэффициенты вариации составили соответственно по годам: в 1985 г – 8,6 %; в 1990 г – 38,7 %.

Для изучения вопросов адаптации особый интерес представляет анализ показателей годового прироста в высоту и связь данных признаков с устойчивостью географических потомств сосны. Так, на примере двух контрастных по влагообеспеченности периодов вегетации было обнаружено, что наименьшее снижение линейного прироста характерно для сосны Ракитовского климатипа.

Индекс снижения приростов обнаруживает сильную положительную связь ($R = 0,81$) с континентальностью в местах произрастания исходных насаждений и с выживаемостью по-

томств климатипов ($R = 0,90$).

Климатипы островных боров на юге Восточной Сибири характеризуются снижением линейного прироста в неблагоприятные годы в 2 и более раза и хорошей выживаемостью – 51–54 %. Напротив, Ракитовский климатип, индекс снижения прироста у которого составил всего 1,16, характеризуется слабой выживаемостью – 16 %.

Таким образом, климатипы островных боров на юге Восточной Сибири на благоприятные условия увлажнения реагируют значительным увеличением прироста аналогично климатипам из оптимальных условий, а в неблагоприятные по увлажнению периоды вегетации данные климатипы, напротив, близки к климатипам из песчаных для сосны районов ареала или занимают промежуточное положение [7]. Климатипы островных боров, произрастающих на юге Восточной Сибири, демонстрируют высокие, близкие к местным высокопродуктивным популяциям, показатели линейного роста при культивировании в благоприятных условиях Новосибирской области и Северного Казахстана.

Следует сделать вывод о генетической адаптации ряда климатипов островных боров на юге Восточной Сибири к чередованию благоприятных и неблагоприятных периодов водно-минерального питания, позволяющей им выживать в жестких условиях. Исследования показали, что ряд климатипов подвида сосна сибирская, и сосна кулундинская, характеризующихся значительным снижением сезонного роста в вы-

соту демонстрируют лучшую устойчивость в жестких условиях засушливого резкоконтинентального климата Западного Забайкалья. Очевидно, это является адаптивной реакцией сосны, стабилизирующей ее устойчивость и свидетельствующей о крайне высокой способности климатипов из островных боров на юге Восточной Сибири противостоять влиянию неблагоприятных природно-климатических факторов, в том числе и в районе эксперимента (Западное

Забайкалье).

Данная закономерность не свойственна маргинальным популяциям, произрастающим, в зависимости от географического положения и экологии мест произрастания, в пессимальных условиях жесткого лимитирования природно-климатических ресурсов. Отмечено также, что климатипы из оптимальных условий в меньшей степени реагируют приростом на изменчивость осадков по годам в мае [7].

Выводы

Таким образом, на основе проведенного анализа можно сделать вывод о повышенной устойчивости ряда климатипов, способных минимизировать потребности в потреблении влаги и элементов питания путем наиболее эффективного снижения линейного роста в неблагоприятных условиях среды. Данные климатипы, об-

ладая широкой нормой реакции, характеризуются пластичностью, высокими адаптивными свойствами и обнаруживают устойчивость при изменении природно-климатических факторов. Наряду с высоко продуктивными климатипами, они имеют большое значение в практической селекции.

Литература

1. Альбенский А.В. Селекция древесных пород и семеноводство. – М. Л.: Гослесбумиздат, 1959. – 306 с.
2. Жуков В.М. Климат Бурятской АССР. – Улан-Удэ, 1984. – 188 с.
3. Коновалов Н.А. Пугач Е.А. Основы лесной селекции и сортового семеноводства. – М.: Лесн. Пром-сть, 1968. – 173 с.
4. Новикова Т.Н. Географические культуры сосны обыкновенной в республике Бурятия // Лесоведение – 2002. – №4, – С. 61–65.
5. Новикова Т.Н. Изменчивость сезонного роста в высоту в географических культурах сосны в Западном Забайкалье // Материалы конференции посвящ. 100-летию научн. селекции в России, Москва, 9-11 декабря, 2003. – С. 129–130.
6. Новикова Т.Н. Стволовая продуктивность и выживаемость сосны обыкновенной в географических культурах Западного Забайкалья // Лесная таксация и лесоустройство: Междунар. научн-практ. журн. – Сиб. ГТУ, 2005. – 2 (35). – С. 114–118.
7. Novikova T.N. Height Increments and Survival of *Pinus sylvestris* Climatypes in Provenance Trials in the Western Trans-Baikal Region // Eurasian J. For. Res. – 2008. – Vol. 11-2. – P. 73–79.
8. Правдин Л.Ф. Сосна обыкновенная (изменчивость, внутривидовая систематика и селекция). – М.: Наука, 1964. – 189 с.
9. Райт Д.В. Введение в лесную генетику. – М.: Лесн. Пром-сть, 1978. – 470 с.
10. Савва Ю.В., Ваганов Е.А., Милютин Л.И. Особенности реакции *Pinus sylvestris* на изменения климатических факторов // Ботанический журнал. – 2003. – Т. 88, №10. – С. 68–82.
11. Burschel P. Das Menetekel – Klimaänderung // Konsequenzen für Forstwirtschaft weltweit. Allg. Forstz. – 1990. – Vol. 45, №11. – P. 255–257.
12. Giertych M, Matyas Cs. Genetics of Scots Pine // Akademiai Kiado. – Budapest. – 1991. – 280 p.
13. Morgenstern E. Kristian. Geographic Variation in Forest Trees: Genetic Basis and Application of Knowledge in Silviculture // UBC Press, Vancouver, Canada. – 1996. – 209 p.
14. Rehfeldt G. Thebakova N.N. Parfenova E.I., Wykoff W.R., Kyzmina N.A., and Milyutin L.I. Intraspecific responses to climate in *Pinus sylvestris* // Global Change Biology. – 2002. – Vol. 8. – P. 912–929.
15. Rehfeldt G. Thebakova N.N. Parfenova E.I., Wykoff W.R., Milyutin L.I., Kyzmina N.A. Assessing Population Responses to Climate in *Pinus sylvestris* and *Larix* spp. of Eurasia with Climate-Transfer Models // Eurasian Journal of Forest Research. – 2003. – Vol. 6–2. – P. 83–98.
16. Shutyaev A.M., Giertych M. Height Growth Variation in a Comprehensive Eurasian Provenance Experiment of (*Pinus sylvestris* L.) // Silvae Genetica. – 1997. – Vol. 46, №6. – P. 332–349.

NOVIKOVA T.N.

V.N. Sukachev Institute of Forest, SB RAS

Russia, 660036, Krasnoyarsk, Academgorodok, 50, e-mail liit@list.ru

SCOTS PINE CLIMATYPES FROM THE SOUTHERN SIBERIA IN PROVENANCES TRIAL IN WESTERN TRANS-BAIKAL REGION

Aim. The aim of this study is the analysis of survival and growth of Scots pine climatypes from forest-steppe regions of the Southern Siberia. **Methods.** Measurement of linear and radial increase of different Scots pine climatypes and revealing of their dependence on climatic factors. **Results.** In the region of our trial (West Zabaikalye) where moisture is a limiting factor plants seasonal growth directly depends on the amount of precipitation in May-June of the growing season. **Conclusions.** Some climatypes are resistant to environmental stress. Along with the highly productive climatypes, they are of great importance in practical breeding.

Key words: Scots pine, climatypes, provenances, West Zabaikalye.

ПОДОБА Б.Є.¹, ГУЗЄВ І.В.¹, СИДОРЕНКО О.В.¹, ГУЗЄВ Ю.В.²

¹ Інститут розведення і генетики тварин НААН

Україна, 08321, Київська обл., Бориспільський р-н, с. Чубинське, вул. Погребняка, 1,

e-mail: sydorenkooolena@ukr.net

² ТОВ «Голосієво»

Україна, 07400, Київська обл., Броварський р-н, с. Гоголів, вул. Леніна, 32

ХАРАКТЕРИСТИКА ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ ЗА ЕРИТРОЦИТАРНИМИ АНТИГЕНАМИ

Збереження біологічного різноманіття генетичних ресурсів тварин і підтримання його оптимального рівня є ключовим завданням світового тваринництва. Основний акцент у загальнодержавних програмах щодо збереження біорізноманіття, зазвичай, ставиться на аборигенних, нечисленних та зникаючих видах і породах тварин, яким притаманні своєрідні генетичні характеристики, що здатні відтворюватися і стійко закріплюються у наступних генераціях. У скотарстві України до таких порід безперечно належить сіра українська. В значній кількості публікацій обґрунтована необхідність захисту її генофонду і запропоновані конкретні методи проведення племінної роботи в умовах обмеженої чисельності поголів'я в стаді [1, 4, 6, 7].

Першочерговим кроком для визначення обсягів і форм збереження генофондових попу-

ляцій має стати всебічна оцінка великої рогатої худоби сірої української породи провідних господарств з її розведення. Одним із загальноприйнятих заходів тестування тварин є імуногенетичні дослідження за еритроцитарними антигенами. Наприклад, у племзаводі «Поливанівка» такий аналіз проводили переважно за аелями системи В груп крові [5]. Спостереження за еволюцією стада за системою ЕАВ засвідчило про збереження досить вагомого запасу генетичної мінливості, чим було обґрунтоване припущення щодо генетичних процесів в породі, які запобігають зменшенню резерву спадкової мінливості.

За антигенами інших локусів стадо системно не аналізувалось. Саме з метою поглибленої комплексної характеристики породи здійснений такий аналіз.

Матеріали і методи

Генофонд сірої української породи аналізували за матеріалами тестування поголів'я тварин племзаводу «Поливанівка» протягом 1970–2005 років за еритроцитарними антигенами, які встановлювали в гемолітичних тестах за загальноприйнятою методикою [2] з використанням моноспецифічних сироваток-реагентів для визначення факторів груп крові, які були виготовлені в лабораторії генетики НДІ тваринництва

Лісостепу і Полісся УРСР (тестування 1970–1976 років) 37 специфічностей, в лабораторії генетичної експертизи НДІ розведення і штучного осіменіння великої рогатої худоби (тестування 1976–1985 рр.) 42 специфічностей, придбані на Армавірській біофабриці (тестування 1997–2005 років) 45 специфічностей. Першими тестуваннями у 1970–ті роки було охоплене все поголів'я тварин племзаводу «Поливанівка» –

дійне стадо корів, ремонтний молодняк, бугаї-плідники [5]. В 80-х роках тестували переважно ремонтний молодняк, а надалі типи крові встановлювали переважно у тварин племядра і частково перспективного ремонтного молодняка. Аналіз стада за спектром всіх еритроцитарних

антигенів з врахуванням даних одержаних в різні роки здійснений з визначенням прояву (Р) окремих антигенів в частках від одиниці, а також антигенонасиченості за генетичними системами А, В, С, F, J, L, M, S, як і суми частот антигенів.

Результати та обговорення

На основі тестувань тварин сірої української породи, здійснених за період з 1970 до 2005 року, встановлено, що в генофонді породи з різною частотою представлена більшість антигенів (табл., рис.). За більшістю антигенів у стаді не відбулося суттєвих змін. Стабільно високою частотою (0,6–0,72) відрізняється антиген А в сис-

темі А. В системі В підвищену частоту (вище 0,3) мають антигени В (0,35–0,57), О (0,32–0,46), Y (0,31–0,51), I' (0,32–0,51). У малофакторних системах високу частоту мають антигени L (до 0,51) і Z (до 0,83). У системах С і S частоту більше 0,5 мають антигени С, Е, R₂, W, S, H'.

Таблиця. Динаміка частоти еритроцитарних антигенів у сірої української породи великої рогатої худоби

Генетичні системи	Антигени	Роки			
		1970–1976	1976–1985	1997	2005
		n = 680	n = 1019	n = 85	n = 77
A	A	0,68	0,67	0,62	0,60
	B	0,35	0,36	0,35	0,57
B	G	0,39	0,38	0,21	0,19
	I ₁	0,20	0,23	0,31	0,40
	O	0,32	0,45	0,41	0,36
	P	0,06	0,06	0,03	0,05
	Q	0,38	0,37	0,29	0,40
	T	0,23	0,27	0,32	0,31
	Y	0,49	0,45	0,31	0,51
	A'	0,17	н.т.	0,21	0,36
	B'	0,11	0,08	0,00	0,00
	D'	0,15	0,14	0,12	0,12
	E ₂ '	0,38	0,24	0,49	0,19
	G'	0,26	0,26	0,15	0,21
	I'	0,39	0,51	0,32	0,34
	J'	0,01	0,02	0,00	0,01
	K'	0,03	н.т.	0,09	н.т.
	O'	0,22	0,21	0,25	0,12
	P'	0,10	н.т.	0,14	0,34
	Q'	н.т.	0,24	0,29	0,18
	Y'	н.т.	0,02	0,16	0,28
	B''	н.т.	н.т.	0,00	0,01
G''	н.т.	0,15	0,14	0,13	
C	C	0,79	0,79	0,83	0,80
	E	н.т.	0,77	0,66	0,65
	R ₁	0,04	0,03	0,00	0,00
	R ₂	н.т.	0,74	н.т.	0,61
	W	0,76	0,81	0,74	0,91
	X ₁	0,25	0,30	0,36	0,43
	X ₂	0,44	0,52	0,50	0,73
	C'	н.т.	0,17	0,22	н.т.
L'	н.т.	0,08	0,12	н.т.	

<i>F</i>	<i>F</i>	0,92	0,90	0,88	0,96
	<i>V</i>	0,50	0,48	0,43	0,45
<i>J</i>	<i>J</i>	0,18	0,28	0,20	0,47
<i>L</i>	<i>L</i>	0,40	0,42	0,51	0,44
<i>M</i>	<i>M</i>	0,05	0,04	0,02	0,03
<i>S</i>	<i>S</i>	0,51	0,76	0,82	0,64
	<i>U</i>	0,13	0,15	0,11	0,30
	<i>H'</i>	0,96	0,87	1,00	1,00
	<i>U'</i>	0,28	0,24	0,08	0,29
	<i>H''</i>	0,08	0,11	0,08	0,30
	<i>U''</i>	0,34	0,30	0,33	0,34
<i>Z</i>	<i>Z</i>	0,75	0,71	0,72	0,83

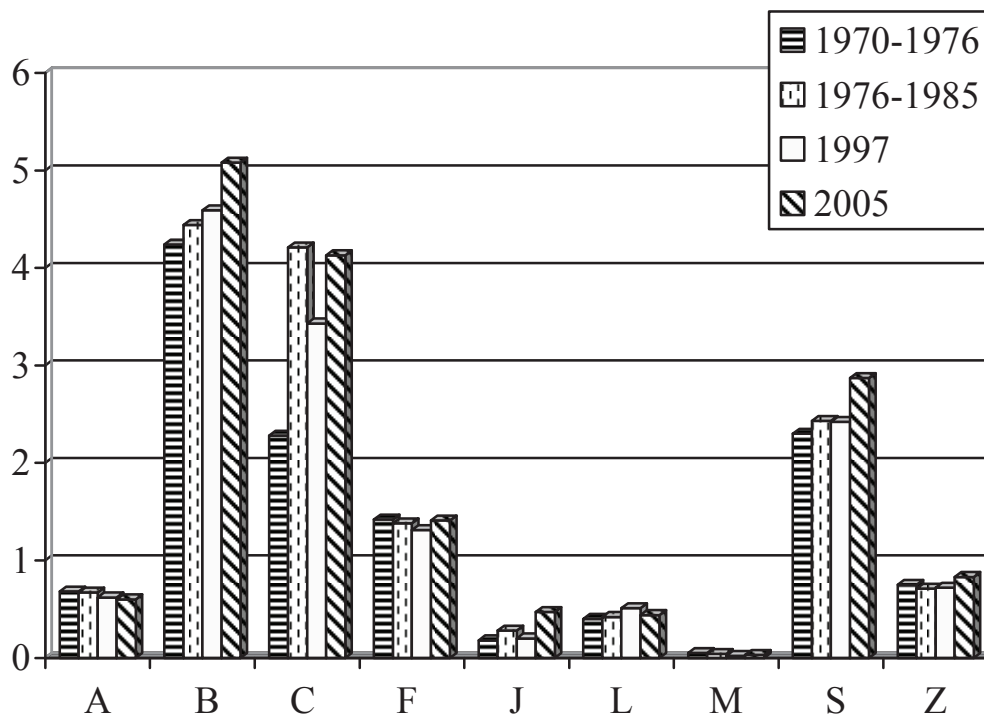


Рис. Динаміка антигенонасиченості сірої української худоби

Протягом всього періоду досліджень зберігається на відносно високому рівні частота антигенів системи В: В, I₁, Q, T, E₂' , G' , I' . Спостерігається зменшення частоти антигенів В' , O' . З іншого боку підвищенням частоти характеризуються антигени А' (з 0,17 до 0,36), Р' (з 0,10 до 0,34), Y' (з 0,02 до 0,28), X₁ (з 0,25 до 0,43), J (з 0,18 до 0,47).

При певній мінливості значень частот антигенів груп крові загальною тенденцією мікроеволюції породи є збереження її високої антигенонасиченості. Така особливість породи привернули на себе увагу ще при першому тестуванні стада племзаводу «Поливанівка» [5], а відносно висока частота антигену V в системі F була визначена не тільки у сірої, а і у білоголової

української породи [3].

Таким чином, щоб зберегти специфіку генетичної структури породи за антигенами, необхідно при доборі плідників перевагу надавати тваринам з наявністю антигенів в системах А, J, L, Z, з алелем V в системі F.

За еритроцитарними антигенами встановлено індивідуальну характеристику плідників сірої української породи сперма, яких зберігається в Банку генетичних ресурсів тварин ІРГТ НААН. Плідник Лебідь 6781 (тип крові А/–E₂' L'Y'–C W F V L S H'), схожий набір антигенів має Мох 8547, але крім антигенів А, V, L в нього є специфічний алель В I₁ QTI' . Плідник Інжир 7927 (тип крові O'–C W FF L SH'). Плідник Барвінок 8247 несе рідкісний багатофакторний

алель системи EAB – BGQY₂B'D' E₂'G' I'O'. Використання сперми цього плідника дасть можливість відновити в породі специфічний маркер її генофонду.

Отже, імуногенетичний аналіз створює інформаційну базу для обґрунтованого регулювання генетичної структури генофондових популяцій. При цьому збереження зразків ДНК у вигляді сперми, проб крові або іншого генетич-

ного матеріалу створює потенційну можливість тестування тварин за розширеним спектром ДНК-маркерів. Саме це беззаперечно обґрунтовує актуальність створення банку ДНК, а першим конструктивним кроком в цьому плані повинно стати резервування сперми всіх плідників, яких використовують в селекційному процесі. Це стосується генофонду всіх порід, які розводять в Україні.

Висновки

Встановлено, що антигенний профіль сірої української породи характеризується підвищеною частотою значної кількості факторів груп крові, яке зберігається протягом 30-річного пе-

ріоду. Для збереження специфічних рис генофонду доцільно відбирати плідників з характерними для породи групами крові, а також маркерами ДНК-локусів.

Література

1. Гузев И.В., Чиркова О.П., Ковтун С.И. и др. Генетические ресурсы серого украинского скота в контексте проблемы защиты биологического разнообразия // Актуальные проблемы биологии воспроизводства животных: материалы междунар. науч.-практ. конф., 25-26 окт. 2007 г. – Дубровицы: Быково, 2007. – С. 442–445.
2. Подоба Б.Е., Голота Я.А., Гиллер И.Р. и др. Методические рекомендации по определению групп крови и контролю достоверности происхождения крупного рогатого скота. – К.: Наук. думка, 1981. – 39 с.
3. Мещеряков В.Я. Подоба Б.Е. Группы крови великой рогатой худоби сірої української та білоголової української порід // Молочно-м'ясне скотарство: респ. міжвід. темат. наук. зб. – К.: Урожай, 1971. – Вип. 24. – С. 7–12.
4. Кругляк А.П., Подоба Б.Е., Стоянов Р.О. та ін. Перспективи збереження генофонду сірої української худоби // Розведення і генетика тварин: міжвід. темат. наук. зб. – К.: Науковий світ, 2002. – Вип. 35. – С. 87–90.
5. Эйсер Ф.Ф., Дасюк О.П., Подоба Б.Е. и др. Серый украинский скот опытного хозяйства НИИЖ Лесостепи и Полесья УССР «Поливановка» // Государственная племенная книга серой украинской породы. – К.: Урожай, 1976. – Т. 5. – С. 15–32.
6. Чиркова О.П., Кругляк А.П., Харчук И.Т. и др. Состояние и перспективы сохранения генофонда серой украинской и белоголовой украинской пород: каталог // Быки производители локальных серой украинской и белоголовой украинской пород. – К.: Урожай, 1987. – С. 13–25.
7. Стоянов Р.О. Проблеми дослідження і збереження генофонду сірої української худоби // Вісн. Білоцерків. держ. аграр. ун-ту: зб. наук. праць. – Біла Церква, 1998. – Вип. 4, ч. 1. – С. 318–321.

PODOBA B.E.¹, GYZIEV I.V.¹, SYDORENKO O.V.¹, GYZIEEV Yu.V.²

¹ Institute of animals breeding and genetics NAAS

Ukraine, 08321, Kyiv region, Boryspil district, v. Chubinsky, Pogrebnjaka str., 1, e-mail: sydorenkoolena@ukr.net

² LLC «Holosievo»

Ukraine, 07400, Kyiv region. Brovarsky district, v. Gogoliv, Lenina str., 32

THE DESCRIPTION OF CATTLE OF UKRAINIAN GREY BREED BY ERYTHROCYTIC ANTIGENES

Aims. Establishment of features of evolution immunogenetic structures of Ukrainian Grey breed of cattle by erythrocytic antigens. **Methods.** Livestock of pedigree plant «Polivanovka» analyzed on materials of testing during 1970–2005 by erythrocytic antigens, which established in hemolytic tests by the standard technique, with use of monospecific wheys – reagents for definition of factors of groups of blood. **Results.** A significant variety erythrocytic antigens and the increased antigenic saturation of the analysed population of native Ukrainian Grey cattle is established. At thoroughbred rearing the spectrum of antigens inherent in breed and their increased total frequency is kept. **Conclusions.** The antigenic structure of breed is characterized by the increased frequencies of a significant amount of factors of groups of blood which are kept during the 30-years period.

Key words: biodiversity, genetic markers, erythrocytic antigens, Ukrainian Grey breed.

ПОДОБА Ю.В.¹, ЯЩУК Т.С.², ДОБРЯНСЬКА М.Л.¹, БЕРЕЗОВСЬКИЙ О.В.¹, ДЖУС П.П.¹, КОПИЛОВ К.В.¹, КОПИЛОВА К.В.¹, СИДОРЕНКО О.В.¹

¹ Інститут розведення і генетики тварин НААН

Україна 08321, с. Чубинське, вул. Погребняка, 1, e-mail: cvic_ua@mail.ru

² Тернопільський інститут АПВ НААН

Україна, 630090, м. Тернопіль, вул. Тролейбусна, 12

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЧЕРВОНОЇ ПОЛЬСЬКОЇ ПОРОДИ ЗА ГЕНАМИ КАПА-КАЗЕЇНУ (CSN3) ТА БЕТА-ЛАКТОГЛОБУЛІНУ (BLG)

Збільшення обсягів виробництва тваринницької продукції та підвищення її конкурентоздатності є вектором, що визначає спрямування реалізації державної політики у сфері тваринництва на поліпшення племінних і продуктивних якостей тварин. У сучасному контексті наукового забезпечення галузі молочного скотарства неодноразово підтверджено ефективність залучення молекулярно-генетичних методів у систему оцінки селекційних ознак худоби. Вагоме місце результатам генетичних досліджень тварин відводиться також у програмах збереження біорізноманіття і організації контролю малочи-

Матеріали і методи

В роботі досліджували генетичну структуру популяції червоної польської породи великої рогатої худоби господарств ПрАТ «Мшанецьке», ПСПП «Славутич» Тернопільської області. Всього протиповано 53 тварини. Дослідження проводились методом ПЛР-ПДРФ

Для PCR-ампліфікації фрагмента гена **CSN3** використовували праймери: 5'-GAAATCCCTACCATCAATACC-3' і 5'-CCATCTACGCTAGTTTATAGATG-3'. Продукт ампліфікації мав розмір 273 п.н. [2]. Температурний режим включав початкову денатурацію 2 хв. при t+95°C, з наступними 35 циклами: денатурація - 30 сек. при 95°C, відпал праймерів - 30 сек. при 58°C і синтез - 1хв. при 72°C. Завершував реакцію кінцевий синтез - 5хв. при 72°C. Використанням рестриктази Hinf I виявляли два алельних варіанти А і В. Для носіїв генотипу АА характерно два сайти рестрикції і три рестрик-

Результати та обговорення

Поліморфізм генів, асоційованих із білково- і жирномолочністю, визначає загальні характеристики продуктивності тварин певної породи великої рогатої худоби молочного напрямку продуктивності. Згідно таблиці 1, у дослідженій популяції червоної польської породи зустрічалися носії трьох можливих варіантів генотипів за геном капа-казеїну, а саме, гомозиготні особини АА, гетерозиготні - АВ та гомозиготи ВВ.

сельних, зникаючих та аборигенних порід [1]. З огляду на це, червону польську породу великої рогатої худоби слід вважати одним із важливих об'єктів для здійснення довгострокового генетико-популяційного моніторингу.

З метою виявлення внутрішньопородних характеристик великої рогатої худоби червоної польської породи нами проведено аналіз розподілу алельних варіантів генів, що асоційовані з ознаками молочної продуктивності тварин, зокрема, локусів капа-казеїну і бета-лактоглобуліну.

ційні фрагменти 133, 91, 49 п.н. У тварин з генотипом ВВ після рестрикції виявляється два фрагменти довжиною 224 і 49 п.н. [3].

Для ампліфікації фрагменту гена **BLG** використовували наступні праймери: 5'-TGTGCTGGACACCGACTACA AAAAAG-3'; 5'-GCTCCCGGTATATGACCACCCTCT-3'. Умови PCR містили початкову денатурацію 95°C - 2 хв., наступних 40 циклів: 95°C - 30 сек., 58°C - 30 сек., 72°C - 1 хв. і кінцевий синтез: 72°C - 5 хв. Продукт ампліфікації довжиною 247 п.н. [4]. Після обробки рестриктазою Hae III генотип АА має один сайт рестрикції. Під дією рестриктази утворюється два рестриктні фрагменти довжиною 148 і 99 п.н., а в носіїв генотипу ВВ є присутнім другий сайт рестрикції, що приводить до формування трьох фрагментів рестрикції довжиною 99 і двох фрагментів з довжиною 74 п.н. [5].

Аналізуючи характер розподілу генотипів за геном капа-казеїну, варто зауважити, що найчастіше зустрічалися тварини з генотипом АА. Їх частота становила 0,49. Достатньо високий рівень гетерозигот з генотипом АВ (0,40) свідчить про наявність значного генетичного резерву за бажаним алелем В гена капа-казеїну. Гомозиготні носії бажаного алелю В у дослідженій групі тварин зустрічалися з частотою 0,11. У

малочисельних популяціях великої рогатої худоби за інтенсивної селекції на підвищення на-

доїв відбувається закономірне зниження вмісту білку і жиру в одержаному молоці.

Таблиця 1. Розподіл частот генотипів і алелів за геном капа-казеїну у дослідженій групі тварин

N	Генотип	Частота	Алель	
			A	B
53	AA	0,51	0,70	0,30
	AB	0,38		
	BB	0,11		

Згідно наших результатів, у тварин червоної польської породи спостерігаємо збереження на достатньо задовільному рівні бажаного алелю В, що асоціюється з підвищеним вмістом білку і кращими його коагулятивними властивостями. Крім того, одержані нами дані узгоджуються із частотами алелів гену капа-казеїну, що наво-

дяться іншими авторами. Так, наприклад, польськими дослідниками у популяції тварин в кількості 65 голів частоти алелів розподілялися наступним чином А – 0,685, В – 0,315 [6].

У таблиці 2 наведено результати генотипування тварин за локусом бета-лактоглобуліну.

Таблиця 2. Розподіл частот генотипів і алелів за геном бета-лактоглобуліну у дослідженій групі тварин

N	Генотип	Частота	Алель	
			A	B
53	AA	0,06	0,30	0,70
	AB	0,49		
	BB	0,45		

Згідно результатів аналізу, для генетичної структури дослідженої популяції великої рогатої худоби червоної польської породи характерний поліморфізм за геном бета-лактоглобуліну. Так, у групі тварин зустрічалися усі можливі варіанти генотипів за локусом β LG. З найнижчою частотою (0,06) зустрічалися тварини з генотипом AA. Найбільшу частку склали гетерозиготи з генотипом AB. Їх частота становила 0,49. Гомозиготи BB займали проміжне положення і зустрічалися з частотою 0,45.

Щодо розподілу алелів А і В за геном бета-лактоглобуліну, то спостерігається значна різниця між їх частотами. Алель А, який асоційований із вмістом сироваткових білків і загальним вмістом білків у молоці, зустрічався з частотою 0,3, завдяки відносно високому рівню гетерозиготних його носіїв у популяції. Значно вищою (0,70) була частота алелю В, який відповідає за рівень жирномолочності.

Аналізуючи генетичну структуру популя-

ції за двома генами, слід відмітити, що за геном капа-казеїну в популяції червоної польської худоби спостерігається зниження гетерозиготності, тобто фактична гетерозиготність (*HO*) нижче за теоретично очікувану (*HE*) (рис.). За геном бета-лактоглобуліну ситуація протилежна. Як видно з діаграми, фактична гетерозиготність переважає очікувану, і індекс фіксації У наявній популяції було виявлено 13 тварин, що мали бажані алельні варіанти у двох досліджених локусах, 10 з них були попарними гетерозиготами за геном капа-казеїну і бета-лактоглобуліну.

Згідно комплексного молекулярно-генетичного аналізу, тварини дослідженої популяції червоної польської породи характеризуються значним генетичним потенціалом за окремими показниками молочної продуктивності. Генетична структура за розподілом алелів і генотипів локусів CSN3 і BLG відображає певну породну специфічність, що може обумовлюватися особливостями селекційної роботи.

Висновки

Досліджена популяція червоної польської породи великої рогатої худоби характеризується поліморфізмом за локусами, асоційованими з білково- і жирномолочністю капа-казеїном, бета-лактоглобуліном.

За геном капа-казеїну переважає частота алелю А, що відповідає за рівень надою, за бета-лактоглобуліном – алелю В, що забезпечує задовільні показники жирності молока.

Результати молекулярно-генетичного ана-

лізу великої рогатої худоби червоної польської породи відображають специфічність генетичної структури її популяції за окремими локусами

кількісних ознак, за якою можна прослідкувати особливості селекційної роботи із породою та її місце в породотворному процесі.

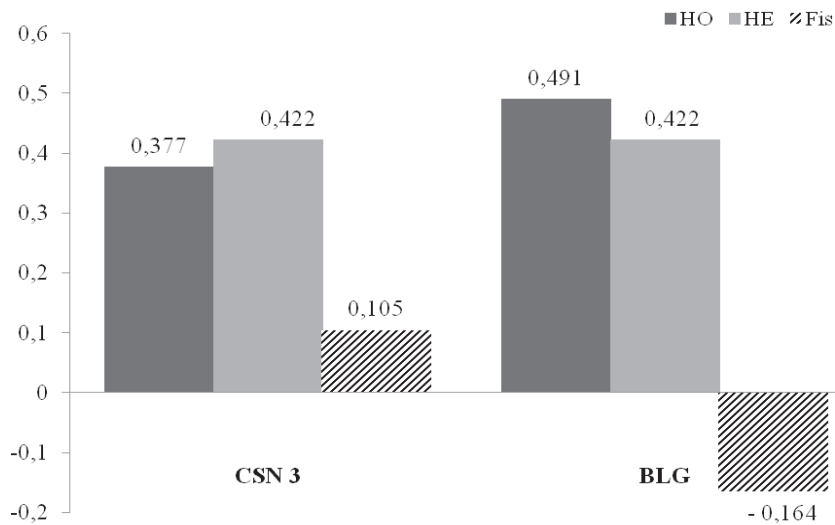


Рис. Показники гетерозиготності за генами капа-казеїну і бета-лактоглобуліну у червоній польській породі великої рогатої худоби

Література

1. Методологічні аспекти збереження генофонду сільськогосподарських тварин / За редакцією І.В. Гузева // Київ: Аграрна наука. – 2007. – 120 с.
2. Kaminski S., Figiel L. Kappa-casein genotyping of Polish Black-and-White x Holstein-Friesian bulls by polymerase chain reaction // *Genetica Polonica*. – 1993. – Vol. 34. – P. 65–72.
3. Eggena, Fries R. Die Untersuchung von Kasein genen mittels DNA-Analyse // *ETH Lan-dwirtschaft Schweb Band*. – 1992. – P. 231–235.
4. Oprzaoek J., Dymaniski E. The effect of growth hormone (GH), k-casein (CASK) and β -lactoglobulin (BLG) genotype on carcass traits in Friesian bulls. *Animal Science Papers and Reports*. – 1999. – №17. – P. 85–92.
5. Medrano J.F., Aquilar-Cordova E. Polymerase chain reaction amplification of bovine β -lactoglobulin genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis // *Animal Biotechnology*. – 1990. – №1. – P. 73–77.
6. Zaton-Dobrowolska M., Citek J., Filistowicz A., Rehout V., Szulc T. Genetic distance between the Polish Red, Czech Red and German Red cattle estimated based on selected loci of protein coding genes and DNA microsatellite sequences // *Animal Science Papers and Reports*. – 2007. – Vol. 25, №1. – P. 45–54.

PODOBA Y.V.¹, **JACHUK T.S.**², **DOBRYANSKA M.L.**¹, **BERESOVSKY O.V.**¹, **DSHUS P.P.**¹, **KOPYLOV K.V.**¹, **KOPYLOVA K.V.**¹, **SYDORENKO O.V.**¹

¹ *The Institute of Animal Breeding and Genetics NAAN*

Ukraine, 08321, Chubynske, Pogrebnyaka, 1, e-mail: cvic_ua@mail.ru

² *Ternopil Institute of agricultural production NAAN*

Ukraine, 08321, Ternopil, Trolejbusna, 12

RESEARCH OF THE POLISH RED BREED CATTLE BY GENES KAPPA-CASEIN (CSN3) AND BETA-LACTOGLOBULIN (BLG)

Aim. To study the genetic structure of populations of cattle Polish Red breed genes for kappa-casein and beta-lactoglobulin. **Methods.** Identification of individual genotypes of animals studied breed was performed by PCR-RFLP analysis. **Results.** Investigated populations were characterized by high frequency of desired alleles A for gene CSN3 and B for gene BLG. **Conclusions.** For Red Polish breed found significant genetic potential for milk production indices.

Key words: Polish Red breed, kappa-casein, beta-lactoglobulin, heterozygosity.

РУБАН С.Ю., БІРЮКОВА О.Д., БАСОВСЬКИЙ Д.М.

Інститут розведення і генетики тварин НААН

Україна, 08321, Київська обл., Бориспільський р-н., с. Чубинське, e-mail: birukova.od@mail.ru

МОНІТОРИНГ ІНБРИДИНГУ СЕРЕД ГОЛШТИНСЬКИХ БУГАЇВ В УКРАЇНІ

Помірний інбридинг на видатну тварину є визнаним методом племінної роботи для консолідації спадковості. На рівні генетичних процесів це виражається у помірному збільшенні гомозиготності та підвищенні генетичної подібності до родоначальника [9]. Метод розведення за лініями, на думку Дж.Ф. Леслі [12] може застосовуватися лише за високого рівня племінної роботи, оскільки необхідною умовою такого методу розведення є ретельне випробування родоначальника за потомством. Оскільки, в результаті збільшення рівня гомозиготності лінійних тварин, збільшується концентрація не лише бажаних генів, а й шкідливих, що може призвести до виникнення інбредної депресії.

Загальновідомо, що із збільшенням рівня інбридингу у популяції з'являються особи з різко вираженими дефектами, за рахунок «інбредної депресії» зніжуються відтворювальні здатності самиць та спостерігається негативний вплив на інші господарські корисні ознаки [5, 7, 10, 13]. Таким чином, збільшення рівня інбридингу у популяції значно знижує економічну ефективність селекційних програм [5, 14].

Матеріали і методи

Проводили генеалогічний аналіз родоводів плідників голштинської породи, що включені до каталогів і допущені до використання в Україні в 2011-2012 рр. Загальна кількість до-

Результати та обговорення

Встановлено, що серед голштинських плідників, що допущені до використання на маточному поголів'ї, 70,9% отримані від кросів ліній та 20,1 % – від внутрішньолінійного підбору. Дещо більший відсоток лінійних плідників отримано в лініях Айвенго (66,7 %), Старбака (46,5 %), Чіфа (37,5 %), Валіанта (40 %). Натомість, у лінії Кевеліе 95 % плідників отримано шляхом кросування. Загалом, понад 63 % бугаїв виявилися інбредними. При цьому 14,8% отримані при застосуванні комплексного інбридингу. Середній показник коефіцієнту за Райтом за всім масивом досліджених плідників знаходиться в межах 1,95–1,96 %. У 2012 році найнижчий показник коефіцієнту інбридингу ($F_x=0,2$ %) властивий бугаям лінії Рігела (в середньому по трьох бугаях), найвищий ($F_x=6,25$ %) – для лінії

Останні 15–20 років у молочному скотарстві України здійснюється інтенсивний породотворчий процес [6], що супроводжується постійною імміграцією генів (імпорт тварин, сперми, ембріонів) кращих світових порід, переважно голштинської. Заходи великомасштабної селекції і біотехнології дозволяють за короткий час істотно змінити породний склад стад цілих регіонів. Проте, у процесі вузької спеціалізації на високу молочну продуктивність, у генфонді порід можуть накопичуватися шкідливі мутації, які завдають значних економічних збитків при неконтрольованому їх поширенні, оскільки носії таких мутацій є нежиттєздатними [2]. Негативною стороною використання голштинів може стати недостатній контроль наявності у імпортованих тварин рецесивних генів, що можуть викликати вади та аномалії [8] та неконтрольовані інбридинги.

Метою роботи було виявити типи підбору, в результаті яких отримані плідники, що допущені до використання в Україні, та провести моніторинг інбридингу.

сліджених тварин 934 голови. Коефіцієнт інбридингу (F_x) обраховували за формулою S. Write у модифікації Д.А. Кисловського [4].

Мейпла (табл. 1). У 2011 році використовувалися лише аутбредні бугаї лінії Рігела (коефіцієнт інбридингу = 0) , найвищий середній по лінії коефіцієнт інбридинга був у 108 плідників лінії Старбака ($F_x=2,58$ %).

Отже, найчисельнішою є група плідників, що одержані в результаті помірної інбридингу: 57,7 % – в 2011 році, 56 % – у 2012 році (табл. 2). Друга за чисельністю група плідників від віддаленого інбридингу; 22,7 та 24,6 %, відповідно у 2011 та 2012 роках. Частка плідників з тісним інбридингом знаходилася в межах 12,2 %–1,9 % від загальної чисельності бугаїв, що допущені до використання.

Слід відмітити загальну тенденцію, що ви виявили на всьому масиві досліджуваних бугаїв. Середнє значення коефіцієнту інбридинга було

найбільшим при застосуванні лінійного розведення ($F_x=2,66\%$) при порівнянні з кросом ліній ($F_x=1,62\%$) та аутбридингом ($F_x=0,93\%$).

Розведення за лініями – визнаний селек-

ційний захід для закріплення в потомстві якостей родоначальника, чому сприяє збільшення гомозиготності в лінії.

Таблиця 1. Середній інбридинг в лініях бугаїв голштинської породи, що допущені до використання в 2012 році

Лінія	Кількість бугаїв	Коефіцієнт за Райтом
Айвенго 1189870.50	3	2,09
Астронавта 1458744.64	2	0,59
Белла 1667366.74	27	1,82
Бутмейке 1450228.63	6	0,49
Джоско Бесна	8	1,81
Валіанта 1650414.73	34	1,49
Елевейшна 1491007.65	76	2,06
Інгансера 343514.77	6	1,86
Кавалера 1620273.72	27	1,52
Каділака 2046246.87	3	0,91
Маршала	29	1,76
Мейпла	1	6,25
Матта	1	0,75
Нагіта 300502.66	2	0,59
Р.Соверінга 198998	2	1,57
Рігела 352882.78	3	0,20
Сітейшна 267150.60	1	4,69
Старбака 352790.79	139	2,44
С.Т.Рокіта	2	0,59
Хановера 1629391.72	12	1,92
Чіфа 1427381.62	127	1,86
Разом	512	1,96

Таблиця 2. Типи підбору, в результаті яких отримані плідники голштинської породи

Роки				Класифікація інбридинга
2011		2012		
К-сть бугаїв	%	К-сть бугаїв	%	
54	12,2	61	11,9	аутбридинг
97	22,7	126	24,6	віддалений
247	57,7	289	56,0	помірний
30	7,0	37	7,2	тісний

Проте, збільшення генетичної подібності тягне за собою підвищення коефіцієнту інбридингу, що може спричинити накопичення не лише позитивних якостей у тварин наступних поколінь, а й збільшення генетичного тягаря. В селекційному процесі з великою рогатою худобою все ширше впроваджується тести на наявність моногенних мутацій: BLAD, дефіцит синтезу уридин-монофосфату (DUMPS – Deficiency of Uridine Monophosphate Synthase), синдактилізм – «нога мула». З поглибленням знань про геном великої рогатої худоби, кількість спадкових дефектів, що підлягають моніторингу, збільшується. Так, у 2000 році у тварин голштин-

ської породи виявлено генетичне захворювання – синдром складної деформації хребта (CVM – complex vertebral malformation) [3, 11].

Серед бугаїв голштинської породи, які допущені до використання на маточному поголів'ї, що включені до каталогів 2003–2004 рр., в середньому 15 % є тестованими за геном BLAD. Для порівняння – за даними Європейського каталогу у Німеччині за 1995 рік серед 4190 бугаїв, занесених до каталогу, протестовано на наявність гену BLAD 31,4 % в Україні [1].

Спостерігається позитивна динаміка щодо генетичного тестування плідників, що допускаються до відтворення маточного поголів'я. Про-

те, у каталозі за 2012 рік 39,5 % плідників не мають результатів генетичного тестування, 5,7 % протестовані лише по одному з основних генів, що складають генетичний тягар у великої рогатої худоби (BLAD, CVM) та спричиняють значні збитки. Лише один бугай (0,2 %) має результат тестування на DUMPS. Така ситуація

створює передумови для поширення генетичних дефектів серед маточного поголів'я в Україні при використанні носіїв спадкових аномалій. Так, наприклад, до відтворення допущений бугай Вільмос16050 не тестований на наявність мутантних алелів, проте його батько Лобого 3000507526 є носієм мутації BLAD.

Висновки

Постійний моніторинг рівня інбридингу в популяції та автоматизований підбір плідників (з уникненням високих рівнів інбридингу) є обов'язковою складовою сучасного селекційного процесу в молочних породах великої рогатої худоби. Застосування тісних інбридингів з ме-

тою збільшення рівня гомозиготності та закріплення цінних якостей видатних предків треба проводити лише за умови ретельного генеалогічного аналізу та молекулярно-генетичного контролю генетичних дефектів.

Література

1. Глазко В.И., Пешук Л.А. Анализ возможных причин быстрого распространения мутации BLAD (иммунодефицита) у крупного рогатого скота // Доп. Нац. Акад. Наук України. – 1997. – № 5. – С. 192–196.
2. Жигачев А., Богачева Т., Фогель С. Система контроля за вредными мутациями // Молочное и мясное скотоводство. – 1998. – №6-7. – С. 18–21.
3. Калашникова Л.А. Современное состояние и проблемы использования методов ДНК в генетической экспертизе племенных животных // Аграрная Россия. – 2002. – №5. – С. 7–11.
4. Кравченко Н.А. Разведение сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 1973. – 486 с.
5. Кузнецов В.М. Инбридинг в животноводстве: методы оценки и прогноза / Киров, НИИСХ Северо-Востока, 2000. – 66 с.
6. Пелехатий М.С. Породоутворювальні процеси у молочному скотарстві України // Вісник аграрної науки. – 1994. – №11. – С. 58–64.
7. Петренко І.П., Кругляк А.П., Цапко В.А. Продуктивність корів від різних варіантів підбору в стадах новостворених молочних порід// Розведення і генетика тварин: міжвід. темат. наук. зб. – Київ, 2010. – Вип. 44. – С. 143–146.
8. Прохоренко П.Н., Логинов Ж.Г. Голштино-фризская порода скота. – Л.: Агропромиздат, 1985. – 238 с.
9. Эйсер Ф.Ф. Некоторые генетические аспекты селекции молочного скота// Генетика. –1970. – Т. 6, №12. – С. 41–50.
10. Belo Horizonte, MG, Brazil; González-Recio O, López de Maturana E, Gutiérrez JP. Inbreeding depression on female fertility and calving ease in Spanish dairy cattle // J. Dairy Sci. – 2007. – Vol. 90, № 12. – P.5744-5752.
11. Kehrl M.E., Schmalstieg F.C., Anderson D.C. Molecular definition of the bovine granulocytopeny syndrome: identification of deficiency of the Mac-1 (CD11b/CD18) // Amer. J. Res. –1990. – Vol. 51, №11. – P 1826–1936.
12. Lasley J.F. Genetics of livestock improvement. – New Jersey: Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, 1978. – 492 p.
13. Hansen, L.B. Monitoring the worldwide genetic supply for cattle with emphasis on managing crossbreeding and inbreeding. In Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18. – 2006. – P. 248–253.
14. Smith L.A, Cassell B.G, Pearson R.E. The effects of inbreeding on the lifetime performance of dairy cattle// J Dairy Sci. – 1998. – Vol. 81, № 10. – P. 2729–2737.

RUBAN S.Y., BIRUKOVA O.D., BASOVSKIY D.N.

Institute of Animals Breeding and Genetics

Ukraine, 08321, Kyiv Region, Boryspil District, v. Chubinsky, Pogrebnjaka, 1, e-mail: irtg@online.ua

THE MONITORING OF INBREEDING FOR GOLSTEIN BULLS IN UKRAINE

Aims. The purpose of work was to define the selection types of bulls, which admitted to the use in Ukraine, are got as a result of, monitoring of inbreeding. **Methods.** Conducted the genealogical analysis of Holstein bulls family tree, which admitted to the use in Ukraine in 2011–2012 years (n=934). The coefficient of inbreeding (F_x) was calculated on the formula of S. Write in modification of D.A. Kislovskiy. **Results.** It is set that 70,9 % bulls got by the crossbreeding and 20,1 % – from a linebreeding. Over 63 % bulls are inbred; 14,8 % is got as a result of complex inbreeding. A middle index of S. Write coefficient on all array of bulls was within the limits of 1,95–1,96 %. Most numerous was a group of bulls, got as a result of moderate inbreeding: 57,7 % – in 2011

year, 56 % – in 2012 year. Part of sires with close inbreeding was within the limits of 12,2 % - 11,9 % from the general quantity of bulles which are admitted to the use. **Conclusions.** Use of inbreedings with the purpose of increase of homozygosity and fixing of valuable internalss of prominent ancestors expediently on condition of careful genealogical analysis and molecular-genetic control of genetic defects.

Key words: Holstein breed, inbreeding, types of selection.

САЛОГУБ А.М., ХМЕЛЬНИЧИЙ Л.М.

Сумський національний аграрний університет

Україна, 40021, м. Суми, вул. Кірова, 160, e-mail: khmelnychy@rambler.ru

СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВА СЕЛЕКЦІЇ ГЕНОФОНДНОГО СТАДА ЛЕБЕДИНСЬКОЇ ПОРОДИ

Молочне скотарство Сумського регіону відрізнялося традиційним розведенням тварин бурої худоби. Уже на кінець 70-х років минулого століття панівне місце у ньому займала лебединська порода, яка за даними О.Є. Яценка [12] на той час характеризувалася двома типами конституції – міцною щільною та ніжною щільною, крупністю, гармонійною будовою тіла, добре розвиненою мускулатурою та вираженими молочними формами. Корови кращих племінних заводів (наприклад, «Михайлівка» Лебединського району) мали достатньо високі показники молочної продуктивності – 5449 кг молока з вмістом жиру 4 % за повновікову лактацію. Молоко «лебединок» відрізнялося високою якістю. За оцінкою хімічного складу у молоці встановлено: вміст жиру – 3,86–4,03 %, білка – 3,53–3,56, казеїну – 2,54–2,61 та сухої речовини – 13,02–13,18 %. Разом з тим, на фоні позитивних показників, що характеризують якість молока, екстер'єрно-конституціональний тип та продуктивне довголіття тварин, лебединська порода виявилася неконкурентоспроможною в умовах інтенсифікації галузі молочного скотарства та промислової технології виробництва продукції, які вимагали корінного поліпшення племінних якостей порід, особливо у напрямку технологічності вимені та високомолочності. У зв'язку з цим, в кінці 80-х років, була поставлена задача створення високопродуктивної бурої молочної породи, придатної до використання в умовах сучасних технологій виробництва, удосконалення якої провести за рахунок застосування кращого світового генофонду бурих швіців Західної Європи та Північної Америки [1, 11].

Використання комбінованої мінливості, отриманої у результаті схрещування лебединської худоби з бугаями швіцької, та цілеспрямованого добору помісних тварин із сприятливим поєднанням селекційних ознак дозволило б сфор-

мувати в порівняно короткий термін бажаний тип бурої молочної худоби. Висунута концепція передбачала створення проміжного між вихідними породами типу тварин, які б відрізнялись високими надоями і технологічністю швіцької породи, з об'єктивними перевагами материнської худоби, які стосуються доброї сиропридатності молока, підвищеного вмісту жиру та білка, особливо його казеїнових фракцій, високої акліматизаційної здатності та продуктивного довголіття.

Запланована концептуальна програма була реалізована і завершилась створенням української бурої молочної породи (спільний наказ Мінагрополітики та УААН за № 386/59 від 03.06.2009 р.). Наразі регіональна популяція племінних тварин нової породи Сумщини являє собою конкурентоспроможну за молочною продуктивністю, структуровану за лініями і родинами, консолідовану за екстер'єрним типом, конституціонально міцну, спеціалізовану молочну породу.

Проте подальшу селекцію бурої худоби неможливо уявити відокремлено від перспективи збереження генофонду лебединської породи. Наразі поодинокі стада цієї породи є унікальними і, за великим рахунком, національним надбанням, оскільки значення генетичних якостей, що притаманні «лебединкам» неможливо переоцінити. Вони добре адаптовані до місцевих умов годівлі та утримання, мають високу життєздатність, довготривале використання, селекційну пластичність, універсальну продуктивність, а за добре створених умов досить високі показники молочності, стійкі проти захворювань, характеризуються екстер'єрно-конституціональною міцністю, їм притаманна низка цінних біологічних особливостей, які відсутні у тварин високоспеціалізованих заводських порід [5, 6]. У зв'язку з цим перед науковцями постало завдання всебічного вивчення генетичних ресурсів,

контролю за селекційною ситуацією та розробкою методів збереження генофонду у закритій популяції.

Залишилось наразі актуальним питання щодо збереження і розвитку таких важливих спадково зумовлених ознак «лебединок», як під-

вищені у їхньому молоці вміст жиру та білка, оскільки останнім часом вивченню молочної продуктивності та, особливо, якісного складу молока у цієї худоби не приділялося належної уваги.

Матеріали і методи

Цілеспрямоване дослідження з поглибленого вивчення ознак молочної продуктивності корів генофондного стада з розведення лебединської породи проводилося у племінному заводі ПрАТ «Сад» Охтирського району Сумської області (n=171). Основні фізико-хімічні показники молока – жир, білок, лактозу та суху речовину визначали методом інфрачервоної діагностики на автоматичному аналізаторі якості молока

Результати та обговорення

Аналіз проведених нами досліджень з оцінки кількісних та якісних показників молока корів лебединської породи показав, що на фоні продуктивності української бурої молочної породи регіону, рівень якої за надоем останньої завершеної лактації становив за даними державного племінного реєстру 2011 року 5444 кг, у порівнянні з середнім надоем по стаду 5292 кг засвідчив про достатню конкурентоспромож-

«Laktoscope» фірми «Deltainstruments» (Голландія) у лабораторії селекційної оцінки якості молока Інституту розведення і генетики тварин НААН України. Матеріали досліджень обраховували за загальноприйнятими методами біометричної статистики та кореляційного аналізу [8] за допомогою використання програмного забезпечення на ПЕОМ.

ність тварини цієї унікальної породи, табл. 1.

Лебединська худоба відноситься до порід у яких традиційно підвищені жирно- та білково-молочність про що свідчать наведені дані наукових досліджень [9, 10]. Результати наших досліджень свідчать, що селекція лебединської породи за останні три десятиліття не вплинула на зниження вмісту жиру в молоці.

Таблиця 1. Показники молочної продуктивності та вмісту якісних складових молока корів лебединської породи у динаміці лактацій

Ознака	n	M ± m	Cv, %
Перша лактація: надій, кг	39	4446±138,9	19,52
% жиру		3,82±0,032	5,21
кг жиру		169,7±5,25	19,31
% білка		3,33±0,025	4,61
кг білка		147,9±4,49	18,95
% лактози		4,73±0,020	2,64
% сухої речовини		12,61±0,072	3,56
Третя лактація: надій, кг	45	5281±57,6	7,32
% жиру		3,87±0,033	5,67
кг жиру		204,8±2,87	9,41
% білка		3,34±0,023	4,57
кг білка		176,5±2,22	8,43
% лактози		4,68±0,024	3,39
% сухої речовини		12,72±0,060	3,16
Разом по стаду: надій, кг	171	5292±78,2	19,34
% жиру		3,83±0,015	5,27
кг жиру		202,4±3,01	19,43
% білка		3,35±0,013	4,94
кг білка		177,1±2,65	19,59
% лактози		4,70±0,010	2,82
% сухої речовини		12,66±0,029	3,01

Рівень жирності молока у межах лактацій варіює з мінливістю від 3,82 % за даними першої лактації, до 3,87 % – за даними повновікової третьої. Ці показники перевищують стандарт породи на 0,12–0,17 %. Рівень коефіцієнтів мінливості вмісту жиру в молоці достатньо великий як для селекціонованої ознаки з високим ступенем успадкування (5,21–5,67 %), тому цей факт істотно розширює можливості для ефективного добору тварин за жирномолочністю.

Наступний показник якості молока, який за селекційним і економічним значенням майже не поступається жиру – це білок. Такі складові молока, як білок, цукор та мінеральні речовини характеризують поживну цінність цього продукту. Цінність молочного білка зумовлена не тільки його високою поживністю, але й вмістом незамінних амінокислот та головним джерелом кальцію і фосфору, які легко засвоюються. Не менш важливим є вміст білка у молоці для молочноконсервного та сироварного виробництва.

За результатами досліджень вміст білка у молоці корів лебединської породи становить в середньому 3,33–3,35 %, це перевищення породного стандарту на 0,03–0,05 %. Якщо порівнювати отриманий рівень вмісту білка з вище наведеними показниками за даними О.С. Яценка [12], то він істотно знизився (на 0,2 % у порівнянні з мінімальним його значенням) і потребує селекційного поліпшення на перспективу через застосування раціонально обґрунтованого добору та підбору

Лактоза або молочний цукор – основний

вуглевод молока групи дисахаридів, структурними елементами якого є глюкоза і галактоза [2]. Лактоза у молоці є найбільш стабільним компонентом, вміст якої майже не змінюється упродовж лактації. Це є дуже важливим чинником, так як молочний цукор відіграє велику роль у збереженні постійного осмотичного тиску у системі кров-молоко [3, 7]. Лактоза – осмотично активна речовина, яка визначає об'єм секреції з молоком води і, відповідно, являється головним фактором, зумовлюючим рівень надою, через це коливання її у молоці значно нижче, ніж жиру і білка.

Наявність лактози у молоці корів лебединської породи коливалася у межах 4,68–4,73 % з самим низьким рівнем мінливості за коефіцієнтами варіації – 2,27–3,39 % у порівнянні з варіативністю вмісту жиру (3,93–5,67 %) та білка (4,57–4,97 %).

Рівень сухої речовини у молоці «лебеденок» також не відрізняється істотною мінливістю, оскільки залежить від вмісту складових сухого знежиреного молочного залишку та молочного жиру [4] і варіює у межах лактацій від 12,61% за даними першої до 12,72 – за даними другої та третьої лактації .

Ефективність селекції худоби за молочною продуктивністю значною мірою залежить від зв'язку між ознаками, які її характеризують. Тому селекційний процес має супроводжуватися моніторингом з визначення та врахування взаємної зумовленості величини надою з провідними складовими молока, табл. 2.

Таблиця 2. Кореляційний зв'язок між ознаками молочної продуктивності корів лебединської породи

Лактація	Ознака	% жиру	
		r	t _d
Перша (n=39)	надій, кг	-0,152	0,97
	% білка	0,651***	7,04
	% лактози	0,030	0,19
	% сухої речовини	0,791***	13,2
Третя (n=45)	надій, кг	-0,004	0,03
	% білка	0,326 *	2,45
	% лактози	-0,118	0,81
	% сухої речовини	0,680***	8,47
Разом по стаду (n=171)	надій, кг	-0,114	1,51
	% білка	0,432 ***	6,94
	% лактози	0,001	0,02
	% сухої речовини	0,730***	20,4

Практика зоотехнії свідчить, що між величиною надою і вмістом жиру в молоці існує від'ємний кореляційний зв'язок, який ускладнює селекційно-племінну роботу за цими двома ознаками спрямовану на їхнє зростання. Наші дослідження не стали виключенням, оскільки кореляція між надоєм і вмістом жиру у молоці корів лебединської породи також виявилась негативною. Її від'ємна ступінь відрізнялася значною мінливістю і залежала від оцінюваної лактації. Найнижчий рівень від'ємного кореляційного зв'язку виявився за даними другої лактації ($-0,367$) з достовірністю при $P < 0,05$. Загальну тенденцію щодо від'ємного спрямування кореляції надій-вміст жиру характеризує загальна вибіркова сукупність корів усього стада ($r = -0,114$), хоча вона не достовірна.

Аналогічна ситуація спостерігалася за оцінкою коефіцієнтів кореляцій надій-вміст білка у молоці лебединських корів, ступінь яких з від'ємним значенням варіювала у межах $r = -0,076 \dots -0,212$.

Вміст лактози у молоці, за свідченням недостовірних величин коефіцієнтів кореляцій, майже не залежить від рівня надою так само,

як і вміст сухої речовини.

Достатньо тісна та достовірна додатна кореляція між вмістом білка та жиру ($r = 0,326 \dots 0,651$), особливо за даними першої лактації та узятих разом по стаду, засвідчила можливість опосередкованої селекції за будь якою із цих важливих в селекційному значенні ознак.

Наскільки відсоток сухої речовини у молоці залежить від інших його складових – вмісту жиру, білка та лактози, переконливо показують показники ступенів додатних коефіцієнтів кореляцій між цими ознаками. Найвищою мірою на вміст сухої речовини впливає жирність молока, про що свідчать самі високі за величиною ($r = 0,680 \dots 0,791$) та достовірністю ($t_d = 7,52 - 20,4$) додатні коефіцієнти кореляцій. Майже на такому ж рівні на вміст сухої речовини чинить вплив вміст білка з відповідними коефіцієнтами ($r = 0,563 \dots 0,740$; $P < 0,001$). Порівняно нижчі коефіцієнти кореляцій лактоза – суха речовина, варіативність яких дещо змінювалась у межах врахованих лактацій ($r = 0,334 \dots 0,428$) та їхньої достовірності ($P < 0,05 - 0,001$), засвідчили також залежність сухої речовини молока від вмісту у ньому молочного цукру.

Висновки

Встановлена тенденція до істотного зниження білка у молоці корів лебединської породи засвідчує необхідність взяття під ретельний кон-

троль селекційну ситуацію щодо оцінки складових молока та підбору бугаїв-плідників з високою племінною цінністю за білковомолочністю.

Література

1. Буркат В.П., Котенджи Г.П., Ладыка В.И. Методы селекции лебединского скота на современном этапе // Матер. науч.-произв. конф.: Новые методы селекции и биотехнологии в животноводстве. – К. – 1991. – С. 118–120.
2. Диланян З.Х. Молочное дело / З.Х. Диланян; [3-е изд., доп. и перераб.]. – М.: Колос, 1979. – 368 с.
3. Жебровский Л.С., Комисаренко А.Д., Митютько В.Е. Прогнозирование молочной продуктивности крупного рогатого скота // Л.: Колос, 1980. – С. 76–102.
4. Кугенев В.П. Практикум по молочному делу: [учеб. и учеб. пособ. для высш. с.-х. учеб. завед.] / В.П. Кугенев, Н.В. Барабанчиков. – [6-е изд. перераб. и доп.]. – М.: Агропромиздат, 1988. – 224 с.
5. Ладыка В.И. Стан та перспективи селекції бурої худоби // Вісник аграрної науки. – 2000. – №12. – С. 84–86.
6. Ладыка В.И. Методи створення, сучасний стан та шляхи подальшого удосконалення бурої молочної породи // Державна книга племінних тварин бурих порід великої рогатої худоби. – К.: «ППНВ», 2004. – С. 38–46.
7. Маркова К.В. Улучшение состава и свойств молока. – М.: Россельхозиздат, 1969. – 128 с.
8. Меркурьева Е.К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 1970. – 423 с.
9. Обливанцов В.В. Продуктивные качества и биологические особенности швицкого скота при акклиматизации в условиях лесостепи Украины: дис. канд. с.-х. наук: 06.00.15 / Обливанцов Владимир Викторович. – Харьков, 1995. – 175 с.
10. Племінна робота. Довідник / [Басовський М.З., Буркат В.П., Зубець М.В. та ін.]. – К.: ВНА «Україна», 1995. – 440 с.
11. Селекційні аспекти якісного поліпшення популяції бурої худоби України / В.П. Буркат, В.І. Ладыка, Г.П. Котенджи [та ін.]: матер. міжнар. наук.-практ. Конференції [«Методи створення порід і використання сільськогосподарських тварин»]. – Харків. – 1998. – С. 32–33.
12. Яценко А.Е. Лебединская порода крупного рогатого скота. – К.: «БМТ», 1997. – 300 с.

SALOGUB A.N., KHMELNYCHY L.M.

Sumskiy national agrarian university

Ukraine, 40021, Sumi, Kirova str., 160, e-mail: khmelnychy@rambler.ru

MODERN STATE AND PROSPECT OF SELECTION GENOFONDNOGO OF HERD OF LEBEDINSKOY BREED

Aims. In the aspect of maintainance of genofond herd of cows of lebedinskoy breed the studied is deep the high-quality signs of milk are hereditarily predefined in their connection with maintenance of fat in the dynamics of lactations. **Methods.** Research was conducted in a pedigree factory from breeding of lebedinskoy breed. The basic physical and chemical indexes of milk determined the method of infra-red diagnostics on the automatic analyzer of quality of milk of «Laktoscope» of firm «Deltainstruments» (Holland). **Results.** The sufficient level of yield is set for the taken into account lactations, that confirms the competitiveness of cows of lebedinskoy breed. The level of changeability of maintenance of fat and albumen in milk satisfies the requirements of standard of breed, however testifies to the necessity of increase last, as maintenance of albumen for 20 years substantially went (on 0,2 % in comparing to his minimum value from literary data) down and needs plant-breeding improvement on a prospect through application of the rationally grounded of intrapopulation selection. **Conclusions.** The substantial decline of protein, is set in course of time in milk of cows of lebedinskoy breed certifies the necessity of careful selection of bulls-producers with a high pedigree value after proteinmilk. The account of the set directed connecting changeability between the signs of the suckling productivity will allow to promote efficiency of selection after them.

Key words: lebedinskaja breed, lactation, fat, protein, lactose, dry substance content.

СЕРГЕЕВ Е.Г.¹, САФРОНОВА Л.Д.²

¹ ГНУ НИИ пушиного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева Россельхозакадемии Россия, 140143, г. Московская обл., Раменский р-н, ул. Трудовая, 6, e-mail: seg008@rambler.ru

² Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН Россия, 119071, Москва, Ленинский пр. 33, e-mail: safronova@sevin.ru

СТИМУЛИРОВАНИЕ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ МОЛОДЫХ САМОК СОБОЛЕЙ ФЕРМЕРСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ

Биологической особенностью соболей является поздняя половозрелость. Характерно, что в природе среди однолеток у 60 % наблюдается наличие желтых тел беременности, а на зверофермах этот показатель не превышает 25 %. Среди однолетних самцов в фермерских популяциях в гоне участвует только 36–48 %.

Эта проблема является значительным препятствием в развитии российского соболеводст-

ва.

В природных популяциях у соболей отмечается весеннее возбуждение, так называемый «ложный гон».

Было высказана гипотеза, что контакт между молодыми соболями весной в условиях клеточного содержания послужит стимулом ускорения их полового созревания.

Материалы и методы

Для эксперимента были сформированы 2 подопытные группы: 1) I – включала 30 самок 15-месячного возраста, 2) II – 27 самок 27-месячного возраста. В I группу к соболюшкам подсаживали половозрелых самцов старше трёх лет, во II группу – трёхлетних самцов.

Спуск пар проводили с 26 февраля по 26 марта (11 раз) через каждые 3–4 дня.

К самкам подсаживали разных самцов.

Контролем служили 259 однолетних и 100 двухлетних самок, которые не контактировали с самцами.

Активность зверей при контакте оценивали по 5 баллам: 1 – агрессивное, 2 – безразличное, 3 – заинтересованное, 4 – дружелюбное, 5 – активное.

Результаты и обсуждение

В результате наблюдений за соболями установлено, что агрессивного поведения не отмечено ни разу на протяжении всего эксперимента.

В I группе (однолетние) 16 самок (53,3 %) ни разу не проявили интереса к подсаженным самцам. У 6 самок (20 %) только однажды было отмечено совместное с самцом нахождение в гнездовом домике и одна самка (3,4 %) единственный раз играла с самцом. Остальные 7 самок (23,3 %) от 2 до 8 раз контактировали с самцами.

Во II группе (двухлетние) 9 соболюшек (33,5 %) отнеслись к самцам безразлично, одна самка (3,4 %) один раз находилась с самцом в гнездовом домике. У 12 соболюшек (44,5 %) наблюдались частые, от 2 до 7 раз, контакты с самцами, а 5 самок (18,6 %) позволяли самцам делать садку (коитуса не было).

Установлено, что двухлетние самки проявляли большую активность по сравнению с однолетками, о чем свидетельствуют частота и характер контактов с самцами.

Рядом исследователей в предыдущие годы проводились аналогичные работы на соболях. Результаты получены не однозначные.

Дулькейт [1] с 12 марта содержал в смежных клетках самку и самца. Дверь между клетками регулярно открывали. Было отмечено, что с 26 марта самец неоднократно залезал в гнездо к самке, однако попыток к покрытию за время наблюдений не было.

В 1929–1931 гг. Петряев [5] с января по апрель, ежедневно, на 12–16 часов соединял несколько десятков пар соболей в следующих сочетаниях: молодая самка – молодой самец, молодая самка-взрослый самец, взрослая самка – молодой самец и взрослая самка-взрослый самец. Проводили ежедневный осмотр половых органов. Оказалось, что ни в одном случае у зверей не наблюдалось признаков гона или полового возбуждения. Соболи или не обращали друг на друга никакого внимания или вели себя агрессивно (пары из взрослых зверей). В молодых парах самки и самцы играли друг с другом. За этот же период не зафиксировано никаких признаков активности у соболей, сидевших по одному (контроль).

Наблюдения за изменением гениталий показали, что в период эксперимента тестикулы визуально не заметны и не прощупываются, вульва не гиперемирована и не видна. К сожалению, автор не приводит результаты последствий весенней подсадки на дальнейшую репродуктивную функцию самок.

Маматкина [2] с декабря до конца гона

(август) рассадил 23 однолетних и 18 двухлетних соболюшек по клеткам таким образом, чтобы взрослый самец обязательно находился в одной из смежных клеток. Контролем служили остальные молодые самки, не контактировавшие с самцами.

В результате опыта было установлено, что среди однолеток процент покрытых был одинаков как в опыте, так и в контроле (соответственно 8,7 и 9,2 %), но в опытной группе щенились все самки, а в контрольной только 22,2 %. Среди двухлеток процент покрытых был выше в контрольной группе (74,7 % против 44,4 % в опыте), но из покрытых в опытной группе щенилось 85,7 %, а в контроле лишь 41,9 %.

Следовательно, присутствие половозрелых самцов в зимне-весенний период положительно сказалось на активизации половой функции молодых самок.

Моравецкий [3, 4] проводил аналогичную работу с молодыми самками в период «ложного гона» соболя. В период с февраля, когда начинается «ложный гон», до середины июня, когда начинается истинный гон, 29 зверей в возрасте 14–15-месяцев были рассажены в шеды таким образом, что их клетки находились между двумя клетками взрослых самцов соболя. С середины июня до августа оценивали результаты размножения экспериментальных и контрольных животных. Контролем служили 20 одновозрастных самок.

Было установлено более активное участие подопытных самок в гоне: в опыте покрыто $55 \pm 9,2$ % самок против 45 ± 15 % в контроле, но различия статистически не достоверны. Автор предполагает, что внешний вид самцов не является достаточно сильным раздражителем для молодых самок. Обонятельные контакты в данном случае были также слишком слабые.

В нашем эксперименте по результатам гона в июне-августе и щенения в апреле-мае следующего года подопытных и контрольных самок был проведен анализ их репродуктивных показателей, результаты представлены в таблице.

Из данных таблицы следует, что между подопытными и контрольными самками, как в I, так и во II группах, статистически достоверных различий нет.

Следует отметить, что среди подопытных однолетних соболюшек в числе покрывшихся были 4 особи, имевшие за время эксперимента только один непродолжительный контакт с самцом и 1 самка, имевшая более двух контактов.

Среди подопытных двухлеток были покрыты 6 самок, не контактировавших с самцами ни разу, 5 самок – имевших 2 и более контакта и 3 самки допускаявшие садку самцов.

Из подопытных покрытых соболушек

щенились: 1 однолетняя и 1 двухлетняя самки, имевшие 2 и более контактов с самцами; две двухлетние самки, допускаявшие посадку самца и одна двухлетка, не имевшая ни одного контакта с самцом.

Таблица. Результаты размножения самок соболей

Группа	n	Покрыто		Ощенилось из покрытых		Выход щенков на самку, М ± m	
		n	%	n	%	основную	щенившуюся
I опыт	30	5	16,7	1	20,0	0,07±0,07	2,00±0,0
I контроль	259	32	12,4	6	18,7	0,07±0,03	2,67±0,04
Δt				0,59		0,06	0,12
II опыт	27	14	51,9	4	28,6	0,44±0,22	3,00±0,2
II контроль	100	51	51,0	14	27,4	0,36±0,10	2,29±0,06
Δt				0,08		0,09	0,33

Выводы

1. Весенние контакты взрослых самцов с молодыми самками не приводят к активизации половой функции соболушек и не влияют на ход гона летом.

2. Случаи посадки самцов во время эксперимента являются элементами игры, а не сексу-

альным поведением.

3. Наибольший эффект на воспроизводительную функцию молодых самок оказало их длительное содержание (с декабря до августа) рядом с половозрелыми самцами.

Литература

1. Дулькейт Г.Д. Материалы по изучению биологии соболя и соболиного хозяйства о-ва Большой Шантар // Известия Тихоокеанской научно-промысловой станции. – 1929. – Т.3, Вып. 3. – 120 с.
2. Маматкина Э.Г. Некоторые факторы, влияющие на размножение молодых самок соболей. Труды ВСХИЗО, 1967, в. 26, с.114-118.
3. Моравецкий А.Ф. Влияние хемоконтактов на участие молодых самок в гоне. Коммуникативные механизмы регулирования популяционной структуры у млекопитающих (Всес. совещ.). – М. – 1988. – С. 97–99.
4. Моравецкий А.Ф. Роль хемокommуникации в половом созревании самок соболя // В кн.: Проблемы химической коммуникации животных. – М. – 1991. – Наука. – С. 380–388.
5. Петряев П.А. Экологические основы разведения зверей из рода Martes. – 1944. – Диссерт. на соискан. уч. степени к.б.н. Рукопись, 337 с.

SERGEEV E.G.,¹ SAFRONOVA L.D.²

¹ Afanasiev Institute of Fur-Bearing Animals and Rabbit Breeding, Russian Academy of Agricultural Sciences

Russia, 140143, Moscow region., Ramenskii district, Labor, 6 str, seg008@rambler.ru

² Severtsov Institute of Ecology and Evolution Problem, Russian Academy of Sciences
Russia, 119071, Moscow, Leninsky Prospect 33, e-mail: safronova@sevin.ru

THE STIMULATION OF THE REPRODUCTIVE ABILITY OF THE YOUNG FUR FARMING POPULATIONS

The *purpose* of research is to study how to promote young female reproductive function sables. The *method* of regular spiking in the spring of mature males to one-and two-year females with subsequent analysis of the behavior of couples. The *results* showed that the two-year females to be more active compared to the same age, as evidenced by the frequency and nature of contacts with males. *Conclusions*. Spring contacts of adult males with young females do not lead to increased sexual function sobolyushek and do not affect the course of the summer breeding season, cases fit males during the experiment are elements of the game, not sexual behavior, the greatest effect on the reproductive function of young females had their prolonged detention (December to August) next to sexually mature males.

Key words: females sable, reproductive ability, farming populations.

СИВОЛАП Ю.М.

*Селекционно-генетический институт НЦ НС
Україна, 65036, Одесса, Овидіопольська дорога, 3*

ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМА И МАРКЕРНАЯ СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ

Познание организации, изменчивости и специфичности генома является одной из весьма существенных проблем современной науки. Представления о возникновении генома связаны с зарождением жизни на Земле и находятся на уровне гипотез. С позиций современной науки нет реальных походов и методического обеспечения для их разрешения. А вот вариабельность и эволюция геномов доступны для исследования и имеют большое теоретическое и практическое значение. Известно выражение великого генетика Н.И.Вавилова о том, что селекция, это эволюция управляемая человеком. Селекция имеет длительную историю, однако на научную основу она встала после возникновения науки генетики, т.е. немногим более ста лет. Генетика и селекция находятся в непростых взаимоотношениях, успехи в улучшении растений во многом зависят от развития генетики, а анализ селекционных популяций дает бесценный материал для генетических исследований. Генетика и селекция, находясь в постоянном диалоге, взаимно дополняют друг друга. Предметом общего внимания является геном, его изменчивость и эволюция. Темпы прогресса биологических наук генетики, молекулярной генетики, молекулярной биологии, биохимии значительно опережают становление новых технологий улучшения растений. На создание сорта или гибрида уходит 12–15 лет, как и 60 лет тому назад, до установления материального носителя наследственности. Такая ситуация связана не только с консерватизмом селекции, но и с недостаточно полным исследованием структуры и вариабельности генома, генетики количественных признаков, гетерозиса и др.

Вариабельность и генетические взаимоотношения геномов культурных растений и их диких сородичей, изменчивость в пределах вида и специфичность сортов представляют интерес для классических и молекулярных генетиков и селекционеров. Большой вклад в развитие представления о геноме был сделан в связи с исследованием ДНК. Ряд исследователей (Мирский, Рис, Манн, МакКарти) еще до знаковой публикации Дж. Уотсона и Ф. Крика 1953 года о структуре молекулы ДНК и ее функции в качестве гена, использовали данные о содержании ДНК в ядре клетки в качестве эволюционного

показателя.

Одним из первых видовых параметров явились количество хромосом и содержание ДНК в ядре клетки. Известны работы М. Bennet, установившего количество ДНК в ядрах клеток многих видов растений. С-value в дополнение к данным о числе хромосом использовалось в качестве показателя «размера генома». По мнению авторов [1] количественные данные по размеру генома всегда должны указывать на числовой префикс С-уровня, такой как 1С, 1СХ, 2С, В цитируемой статье М. Bennet с коллегами констатируют, что термин «размер генома» не стабилизировался. Во многом это обусловлено недостаточным изучением генома, неоднозначностью эволюционных показателей и во многих случаях несоответствием количества ДНК в ядре эволюционной продвинутости вида. С-парадокс стимулировал исследования молекулярной организации и изменчивости ДНК. Открытие фракции повторяющихся последовательностей ДНК Р.Бриттеном показало, что значительная роль в эволюционной изменчивости количества ДНК принадлежит повторам. При построении схемы эволюции живых организмов без фракции повторяющихся последовательностей несоответствия устраняются. В последующем, М. Bennet а также нашей сотрудницей Е. Бойко [2] показано количественное варьирование ДНК между сортами злаков.

Значительный прогресс в исследовании молекулярной организации и изменчивости генома связан с анализом кинетики реассоциации ДНК, позволившим выделить фракции, различающихся по копийности и выполняемым в генетической системе клетки функциям. Сателлитная, минисателлитная, микросателлитная ДНК, мобильные генетические элементы, рибосомная, транспортная, гистоновая ДНК, представляющие значительную часть повторяющейся ДНК, подвержены видовой и внутривидовой изменчивости и явились важной составляющей частью новейших биотехнологий дифференциации и идентификации видов (геномов) и генотипов. Во второй половине 20-го и начале 21 века начались исследования организации и меж- и внутривидовой изменчивости с применением молекулярных маркеров. Внедрение в 1987 году Маллис и Фалоне ПЦР-анализа [3] в прак-

тику исследования ДНК создало возможность изучения молекулярно-генетического полиморфизма в селекционных масштабах. Прогресс молекулярной генетики дал толчок к развитию различных типов ДНК-маркеров, основанных на анализе полиморфизма нуклеотидной последовательности ДНК. В настоящее время развиты RAPD, IRAP, REMAP, AFLP, STR, SSR, SNP и другие типы маркерных систем. Их использование коренным образом изменило методы оценки генетического разнообразия, идентификации и классификации сортов растений, картирования и определения физической природы генов, интрогрессии новых генов и генетического мониторинга в селекции и генетике сельскохозяйственных растений.

В генетико-селекционные проекты задействованы такие ДНК-технологии, как MAS-отбор по молекулярным маркерам и MAB-селекция с помощью молекулярных маркеров. Эти технологии позволяют значительно сократить популяцию растений, находящихся в селекционных питомниках, отобрать генотипы, несущие необходимые гены или аллели генов, и выбраковать остальные растения. При использовании одного маркера в F₂ для дальнейшего изучения остается 25 %, а скрининг с двумя маркерами оставляет около 6 % растений, несущих нужный ген (аллель). Отбор можно проводить на любой стадии развития растений. В зависимости от поставленной задачи анализируют проростки, листья или фрагмент эндосперма зерна. В последнем случае отбор на стадии зерен также способствует сокращению термина селекционного процесса. Автоматизация процессов отбора и штрих кодирования образцов зерна для ДНК-типирования и ПЦР анализа ДНК значительно повышает эффективность селекции. На рис. представлен сконструированный специалистами Монсанта аппарат Corn Chipper для отбора для ДНК типирования образцов из семян растений. За смену отбираются несколько тысяч образцов для ПЦР анализа. Важным показателем является уменьшение сроков создания сорта за счет отбора при помощи кодоминантных маркеров гомозиготных форм.

Маркирование простых признаков. Наибольший прогресс в маркировании агрономически ценных генов отмечается при изучении моногенных или олигогенных признаков, оказывающих существенное влияние на фенотип и относительно нечувствительных к воздействию окружающей среды. Для маркирования практически могут быть использованы как моно – так и полилокусные системы. В качестве генетическо-

го материала предпочтительны близко изогенные линии, рекомбинантные инбредные линии, однако чаще всего анализируют расщепляющиеся по интересующему признаку популяции. Маркер может быть эффективен только для одной популяции, поэтому большое значение приобретает совместная работа по созданию и анализу расщепляющейся популяции молекулярных генетиков и селекционеров. В Украине пионером и центром молекулярного маркирования признаков сельскохозяйственных растений явился Южный биотехнологический центр (ЮБЦ), где объектами исследования стали гены, детерминирующие устойчивость к патогенам, стрессам, определяющим качество зерна и др. Сорта украинской селекции охарактеризованы по генам, определяющим тип и темп развития Vrn, Eps, Vtd, реакцию на длину дня Ppd и др. В ЮБЦ разработана ДНК-технология определения качественных показателей зерна мягкой пшеницы: твердозерность/мягкозерность, низкое содержание амилозы. Сорта Мироновская 33, Мирлебен, Оксана и линия B16 показали аллельный состав пуриноидинов, наиболее распространенный в мире среди мягкозерных сортов (Pina-D1a; Pinb-D1a). 93 % исследованных сортов имели аллельный состав пуриноидинов Pina-D1a; Pinb-D1b, т.е. характеризовались как твердозерные сорта *Triticum aestivum* L. Выявле-

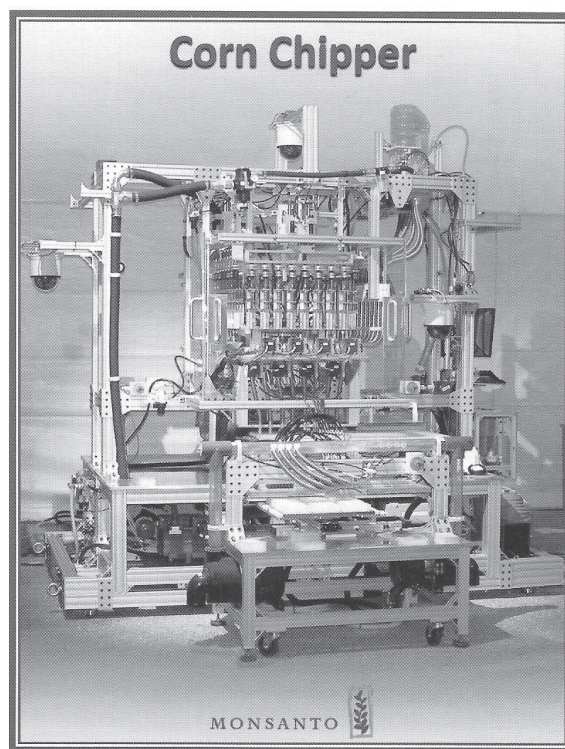


Рис. Corn Chipper фирмы Монсанта

ны молекулярно-генетические особенности и аллельные характеристики гена β-амилазы сортов ячменя украинской селекции ПЦР-анализ позволил охарактеризовать исследованные сорта по аллелям β-амилазы, оказывающие влияние на пивоваренные свойства сорта. Маркированы гены СВF-регулона, которые отвечают за низкотемпературную толерантность ячменя и пшеницы.

Проанализированы локусы, которые ассоциируются с белками теплового шока: *umc1546*, *umc1610*, *hsp18a*, *cpn2*, *hsp26/l*, *hsp70/l* в наборе контрастных по жаростойкости линий кукурузы. Выбранные полиморфные локусы являются потенциальными маркерами для оценки генотипов кукурузы на жаростойкость. Маркирующую способность локуса ORS1036, для которого установлено сцепление с геном устойчивости к заражению расы *C Or 3* на расстоянии 8 см, проверено ПЛР-анализом набора инбредных линий и гибридов. Маркер признака «устойчивость подсолнечника к заражению расы *C*» может быть рекомендован для использования в селекционном процессе.

Локализован на молекулярно-генетической карте мягкой пшеницы ген устойчивости к твердой головне *Vt*, который перенесен от *Ae. cylindrica*, в интеркалярный участок длинного плеча хромосомы 1В пшеницы на расстоянии 7.6–8.5 см дистальнее маркера *Xgwm 259*. Проведен маркерный анализ цитогенетически модифицированной центрической транслокации 1RS.1BL мягкой пшеницы с целью эффективного использования в селекции. Осуществлен анализ гибберелин-чувствительных генов короткостебельности в генотипах сортов мягкой пшеницы Украины.

Установлены аллельные характеристики сортов мягкой пшеницы, которые были созданы и используются в селекционных программах в Украине в 1912–2002 гг, по локусу *Xgwm261 (2DS)*, который является диагностическим маркером к гену короткостебельности *Rht8c*. В 98 % современных сортов мягкой пшеницы СГИ детектировано диагностический для гена *Rht8c* аллель *Xgwm261–192* п.н.

Маркирование локусов количественных признаков. Большинство агрономически ценных признаков является количественными, т.е. их генетический контроль полигенный, фенотипическое проявление непрерывно, что значительно усложняет их контроль в селекционном процессе. Определение локусов количественных признаков (QTL) является важным моментом при маркировании и картировании признаков. В

Украине первые работы по маркированию QTL ячменя проведены в 1997 году при помощи полилокусных маркеров [4]. Анализ расщепляющейся популяции для маркирования QTL кукурузы осуществлены в работе В. Доменюка и др. В связи с тем, что отбор в селекции начинается с F_2 , то объективным критерием проверки маркирующей способности полиморфных локусов ДНК остается оценка неравновесия сцепления между аллелями маркеров QTL у родителей и рекомбинантов F_2 . Изучение сегрегирующей популяции, где разные генотипы имеют одинаковую возможность развития, позволил рассмотреть основу генотипической изменчивости и определить каркасные QTL, которые сохранили влияние в контрастных условиях выращивания. Создание маркеров к таким локусам открыли перспективу прогноза и маркерного отбора генотипов с оптимальными уровнями развития количественных признаков. Для использования ДНК маркеров необходимо создание адекватной генетико-статистической модели отбора по полигенным признакам. В 2007 году в Реестре сортов Украины впервые зарегистрирован гибрид кукурузы, созданный селекционерами СГИ с участием сотрудников ЮБЦ, осуществившим маркирование QTL.

Генотипирование сортов. Важным элементом селекционного процесса является оценка исходного селекционного материала, установление молекулярной структуры сорта и генетического сходства – удаления от форм растений предлагаемых для гибридизации. В ЮБЦ разработана система дифференциации и идентификации сортов, линий, гибридов сельскохозяйственных растений. В соответствии с утвержденным UPOV DUS-тестом, ДНК-типирование пока не является обязательным условием при регистрации сорта. Однако, представление сорта в виде молекулярно-генетической формулы дает представление о структуре сорта, его соответствии требованиям однородности и стабильности. Причем, для характеристики сорта нет прямой необходимости в затратных полевых анализах фенотипических признаков, которые подвержены влиянию условий выращивания. Идентификационная составляющая формулы создает возможность решить проблему новизны сорта и дифференциации его от сортов, находящихся в базе данных. Информационная часть формулы дает сведения об аллельном составе агрономически ценных локусов. После вступления Украины в ВТО возросла необходимость защиты прав селекционеров.

Литература

1. Greilhuber J., Dolezel J., Lysak M., Bennet M. The Origin, Evolution and Proposed Stabilization of the Terms «Genome Size» and «C-Value» to Describe Nuclear DNA // Contents Oxford Journals Life Sciences Annals of Botany. – 2005. – Vol. 95, Issue 1. – P. 255–260.
2. Бойко Е.В., Бадаев Н.С., Фактор В.М., Сиволап Ю.М., Зеленин А.В., Бродский В.Я. Сравнительное определение количества ДНК в ядрах клеток сельскохозяйственных злаков // Цитология. – 1985. – Т. 27, N 5. – С. 611–614.
3. Mullis K.B, Faloona F.A. Specific synthesis of DNA *in vitro* via the polymerase alysed reaction. *Meth Enzymol.* – 1987. – Vol. 255. – P. 335–350.
4. Сиволап Ю.М., Календарь Р.Н., Нецветаев В.П., Чапля А.Е. Маркерный анализ некоторых QTL ячменя с помощью RAPD и изоферментов // Цитология и Генетика. – 1997. – Т. 31. – С. 39–45.

SIVOLAP YU.M.

Plant Breeding and Genetics Institute

Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopolskaya doroga str., 3, e-mail: genome2006@mail.ru

GENOME EVOLUTION AND MARKER ASSISTED PLANT BREEDING

Study variability and evolution of the genome is of great theoretical and practical significance. Plant breeding using the knowledge of the genome and genes to create a more productive and resistant varieties. The development of molecular genetics contributed to the creation of new technologies to increase the efficiency of the breeding process. In practice genetiics – breeding research have been implemented MAS and MAB technology, which can significantly reduce the scale of field plots and accelerate to select genotypes with the right combination of genes (alleles). Genetic markers of playing an important role in studying the genetic constitution of the varieties, and in particular, the evaluation of the initial selection of the material, because it easier to control the incorporation of genetic factors from parent forms produced varieties and hybrids. A pioneer and a development center in Ukraine marker technology was South Plant Biotechnology Center where developed and put into practice marking simple and quantitative agronomy valuable genes and the system of identification and registration crop varieties.

Key words: evolution, genome, plant breeding, marker, South Plant Biotechnology Center, Ukraine.

СИДОРЧУК В.И.¹, КУЛИК Л.А.²

¹ *Белоцерковская опытно-селекционная станция*

Украина, 09176, Киевская обл., Белоцерковский р-н, п.о. Малая Ольшанка

² *Институт биоэнергетических культур и сахарной свеклы*

Украина, 03141, г. Киев, ул. Клиническая, 25

О ВЛИЯНИИ ЭДАФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА СЕЛЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС (ИЗ ИСТОРИИ СЕЛЕКЦИИ ВИКИ ЯРОВОЙ НА БЕЛОЦЕРКОВСКОЙ ОПЫТНО-СЕЛЕКЦИОННОЙ СТАНЦИИ)

Важной составляющей сельскохозяйственной экосистемы являются эдафические (почвенные) условия жизнедеятельности растений. Почвенный комплекс включает кроме минеральных и органических соединений воды и воздуха еще большое количество микроорганизмов, которые находятся в динамическом взаимодействии с растениями.

Как показала многолетняя практика реализации селекционных программ по вике яровой на Белоцерковской опытно-селекционной станции, эффективность их выполнения зависит от репрезентативности оценок, полученных в процессе изучения продуктивности селекционных

номеров. Однако, для каждого вида растений есть лимитирующие эдафические факторы, которые усложняют такую оценку. Наличие даже одного такого фактора может вызвать депрессию продуктивности, что в итоге снижает эффективность селекционной работы. Так, недостаток Р в почве приводит к уменьшению кущения, угнетению роста корней, ослаблению поглощения влаги, снижению хлорофилла в листьях ячменя [1, 2]. Каждому виду почв свойственны свои особенности нарушения сбалансированности минерального питания растений, обусловленные их генезисом. Разбалансированность их химического состава Fe, Ca, и Si при-

водит к специфическим нарушениям в питании ряда зерновых культур [3]. Для вики яровой одним из таких факторов является кислотность почвы. Деятельность азотфиксирующих бактерий замедляется при pH меньше 5. Многолетнее выращивание зернобобовых культур в севообороте может привести к дефициту критически важных микроэлементов (Со) и угнетения естественной симбиотической деятельности вслед-

Материалы и методы

Селекция вики яровой на Белоцерковской опытно-селекционной станции ведется свыше 80 лет, начиная с 1928 года. За этот период место проведения исследований менялось четыре раза, преимущественно в силу организационных причин. Вместе с тем эдафическая характеристика опытных участков существенно отличалась.

Первый селекционный участок был расположен в отделении «Роток», восточная окраина г. Белая Церковь, на глубоких черноземах с содержанием гумуса 3,5 % с низкой гидролитической кислотностью.

Второй селекционный участок размещался в отделении «Александрия», западная окраина г. Белая Церковь, на оподзоленных черноземах с содержанием гумуса 2,9 %, с высокой минерализацией почвы

Третий участок – в отделении «Ленин-

Результаты и обсуждение

За 12 лет (1928–1941 гг.) на отделении «Роток», наряду с всесторонним изучением культуры вики яровой, был создан ценный селекционный материал, а также ряд высокопро-

дуктивных сортов (табл. 1), из которых Белоцерковская 874/31 и Белоцерковская 27 были районированы в Украине и имели широкое распространение в 60-тых годах [5].

стие развития в ризосфере вредоносных микроорганизмов, антогонистов клубеньковым бактериям и специфических вирусных болезней [4]. Ввиду этого, экологическая типичность опытного участка, его эдафическая характеристика имеют решающее значение для успешной селекционной работы, что и определило цель исследования.

Четвертый участок, в отделении «Селекционное», к югу от г. Белая Церковь, размещался на глубоких черноземах с содержанием гумуса 4,7 %.

К особенностям третьего и четвертого участка, перешедших к опытно-селекционной станции от коллективных хозяйств в семидесятых и девяностых годах, состоит в использовании экстенсивного земледелия. Урожай сельскохозяйственных культур формировался за счет естественного плодородия земель. Чего нельзя сказать о втором участке, на опытных полях которого, при выращивании сахарной свеклы и зерновых культур применялись в рекомендуемых дозах минеральные удобрения.

Таблица 1. Результаты работы по селекции вики яровой за 1928–2010 гг. на Белоцерковской опытно-селекционной станции

Номер участка и место расположения	Годы (период)	Районированные или внесенные в Реестр сорта, национальные стандарты	Распространение сортов
I. Отделение «Роток»	1928–1941 (12)	БЦ 874/31, БЦ 27	Широко распространенные в Украине
II. Отделение «Александрия»	1945–1964 (20)	БЦ 24, БЦ 287, БЦ 64/55	Мало распространенные в Украине и РСФСР
III. Отделение «Ленинское»	1965–1980 (16)	БЦ 199, БЦ 222 , БЦ 623, БЦ 33	Доминировали в Украине и Белоруссии
IV. Отделение «Селекционное»	1981–2010 (30)	БЦ 50, БЦ 66, БЦ 679, БЦ 88 , БЦ 70, БЦ 9, БЦ 34, БЦ 7 , БЦ 96, БЦ 10, Ярослава , Изиды, Евгены, Лиля	Доминируют в Украине

За 20 лет (1945–1964) работы в отделении «Александрия», принимая во внимание почвенную разность, насыщенность севооборота сахарной свеклой, это место оказалось неудачным для селекции вики яровой. Сорт Белоцерковская 24 районирован в одной области Украины, а сорта Белоцерковская 287 и Белоцерковская 64/55 районированы в отдельных областях РСФСР [6].

С первых лет работы на отделении «Ленинское» (1965–1981 гг.) исследования проводились на фоне средних урожаев кормовой массы и семян. Имея в распоряжении генетически очень однородный селекционный материал, созданный в предшествующие годы на базе собственных селекционных номеров и отдельных сортов селекции других исследовательских учреждений, был создан ряд сортов с уникальными свойствами, чего не удавалось сделать работая с тем же материалом на отделении «Александрия». На протяжении 15 лет было выведено 5 сортов, которые были районированы в большинстве областей Украины, а также в Белоруссии: Белоцерковская 199, Белоцерковская 222, Белоцерковская 623, Белоцерковская 33, Белоцерковская 66. Сорт Белоцерковская 222 длительное время был национальным стандартом [7]. После районирования этих сортов из посевов в Украине были вытеснены сорта Львовская 31/292 и Львовская 60.

В 1981 году в связи с очередной реорганизацией и присоединением к Белоцерковской опытно-селекционной станции земель в районе села Малая Ольшанка на юге от г. Белая Церковь, селекционная работа по вике яровой была перенесена на новое место, где было введено в эксплуатацию два специальных севооборота. Севооборот №1 для селекционных исследований по сахарной свекле, озимой пшенице и вике яровой имел 10 полей с площадью одного поля 10,5 га. Севооборот №2, который использовался для исследований по селекции тетраплоидной сахарной свеклы, имел 8 полей с площадью поля 10,5га.

Начав работу на новом месте, удалось развить успех, достигнутый в 80-х годах. Прежде всего были созданы сорта устойчивые к весенне-летней засухе, которые позволили поднять семенную продуктивность у вики яровой. Были районированы сорта Белоцерковская 50, Белоцерковская 66, Белоцерковская 679, Белоцерковская 88, последний признан национальным стандартом [8].

Следующим этапом стало выведение сор-

тов с комплексной устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды, с высокой продуктивностью кормовой массы и семян. Это сорта Белоцерковская 34, Белоцерковская 7, Белоцерковская 96, Белоцерковская 10. Особенно следует выделить сорт Белоцерковская 7, который включен в Реестр сортов Украины в 2000 году и на протяжении 10 лет был национальным стандартом.

Примечательно, что в процессе селекционной работы на III и IV участках, при повторном отборе было выведено два новых сорта: на участке «Ленинское» путем отбора из сорта Белоцерковская 222 был выведен сорт Белоцерковская 33, получивший широкое распространение в Западных областях Украины.

На участке «Селекционное» из сорта Белоцерковская 679 выведен сорт Белоцерковская 88 имевший широкий ареал распространения в Украине и служившей национальным стандартом в Государственном сортоиспытании. Это указывает на высокую дифференцирующую чувствительность данных участков в начальный период их эксплуатации.

Однако в дальнейшем прогресс в селекции вики яровой замедлился. В 1998 году завершилась вторая ротация в севообороте №1. Уже в начале третьей ротации усложнился отбор перспективных номеров, прежде всего вследствие противоречивых оценок продуктивности в сортоиспытании за ряд лет. Сорта, которые мы продвигали (передавали в государственное сортоиспытание), в лучшем случае повторяли предыдущие достижения. Фактически мы столкнулись с явлением депрессии продуктивности, вследствие чего отбиралось худшее, а лучшее не было замечено. Так, новый сорт Лиля по результатам государственной экспертизы в 2009 году имел урожай семян на 1 ц/га ниже по сравнению со стандартом Белоцерковская 7 в среднем по семи сортоиспытательным станциям.

В 2008 и 2009 годах, когда началась четвертая ротация, получено прямое подтверждение существования депрессии продуктивности у вики яровой, которая выращивалась в севообороте №1 на протяжении 30 лет (табл. 2).

В 2008 году в обоих севооборотах выращивался сорт вики яровой Белоцерковская 10. Во втором севообороте на площади 18,5 га получен урожай 27,6 ц/га тогда как в первом севообороте на площади 3,5 га получено по 18,9 ц/га, или меньше на 8,7 ц/га.

В 2009 году в обоих севооборотах выращивался сорт Ярослава. Во втором севообороте

на площади 21,0 га получен урожай семян по 23,4 ц/га, тогда как в первом, на площади 3,0 га – по 14,6 ц/га, или меньше на 8,4 ц/га. Учитывая, что поля обоих севооборотов соседствуют, а технология выращивания одинаковая, такая разница – весьма значительна.

Объяснить это можно депрессией продуктивности, которая возникла в севообороте №1 вследствие выращивания вики яровой на протяжении трех ротаций, тогда как в севообороте №2 вика яровая вовсе не выращивалась [9].

Таблица 2. Урожайность семян сортов вики яровой в двух севооборотах

Год	2008		2009	
Сорт	Белоцерковская 10		Ярослава	
	площадь, га	урожай, ц/га	площадь, га	урожай, ц/га
Севооборот №2*	18,5	27,6	21,0	23,0
Севооборот №1**	3,5	18,9	3,0	14,6
Разница в урожае		8,7		8,4
Степень превышения, разы		1,46		1,58

Примечания: * – культура вики яровой в севообороте не выращивалась; ** – культура вики выращивалась на протяжении трех ротаций.

Выводы

При благоприятных эдафических факторах селекционного участка реализуется прежде всего адаптивный потенциал генотипов. Таким образом, есть возможность отобрать сорта гарантирующие высокую продуктивность не только при благоприятных климатических условиях, но и в случае действия неблагоприятных факторов. В то же время отбор на толерантность в условиях депрессии продуктивности может ока-

заться несовместимым с селекцией на высокую продуктивность в благоприятных условиях окружающей среды.

Чтобы избежать депрессии продуктивности необходимо в селекционных программах предусмотреть своевременную смену селекционного участка или проводить регулярную рекультивацию существующего, используя принципы биологической системы земледелия.

Литература

- Zhang Sin-gong, Lin Gua-dong, Don Yu-ging, Lin Geng-ling. Xibei zhiwn xuebao // Acta Bot. Boreali – Occident. Sin – 2002 – Vol. 22, №3 – P. 574–578.
- Sun Haiguo, Zhang Fusuo. Yingyong shengtai xuebao // Chin. J Appl. Ecol. – 2002. – Vol. 13, №3. – P. 295–299.
- Ельников И.И., Бирюкова О.А., Погорелова Н.С. Почвы-ведущий фактор сбалансированности минерального питания растений // Функции почв в биосферно-геосферных системах: Материалы международного симпозиума. – Москва, 27–30 авг. 2001. – М., 2001. – С. 75–76.
- Жученко А.А. Адаптивное растениеводство (эколого-генетические основы) – Теория и практика // Основы адаптивного использования природных, биологических и техногенных ресурсов. – М.: Изд-во Агро-рус., 2009. – Т. 2.
- Стегайло Т.А. Селекция вики яровой на Белоцерковской опытно-селекционной станции // Сборник научных работ Белоцерковской опытно-селекционной станции. – К.: Государственное издательство сельскохозяйственной литературы Украинской ССР, 1958. – С. 185–200.
- Сидорчук В.И., Лищенко Н.П. Селекция вики яровой на Белоцерковской опытно-селекционной станции // Селекция, агротехника и защита растений. Сборник научных трудов. — К., 1973. – Вып. 5. – С. 53–57.
- Сидорчук В.И. Селекция вики яровой и гороха на устойчивость к неблагоприятным (абиотическим) факторам среды // Селекция и семеноводство зерновых и зернобобовых культур в системе НПО «Сахсвекла». Сборник научных трудов. – К., 1989. – С. 76–82.
- Сидорчук В.И. Сорта яровой вики с высоким адаптивным потенциалом // Сборник научных трудов. Направления и методы совершенствования селекции зерновых и зернобобовых культур. – Киев, 1994. – С.36–41.
- Сидорчук В.И., Петриченко С.М. Регрес продуктивності як фактор зниження результативності селекційних досліджень у вики ярої // Фактори експериментальної еволюції організмів. Збірник наукових праць. – К.: Логос, 2011. – Т. 10. – С. 533–536.

SIDORCHUK V.I., KULIK L.A.

Belocerkovskaya experimental plant-breeding station

Ukraine, 09176, Kyivskaya oblast, Belocerkovskiy district, v. Mala Olshanka

The Institute of Bioenergetic Crops and Sugar Beet

Ukraine, 03141, Kyiv, Klinichiskaya str., 25

THE INFLUENCE OF EDAPHIC FACTORS ON THE SELECTION PROCESS (THE SELECTION BY VETCH SPRING ON THE BILOCERKOVSKAYA EXPERIMENTAL BREEDING STATION)

Aims. The effectiveness of realization of the selection processes by the Vetch Spring system is clearly dependable on the representativeness of the marks that are obtained during the study of efficiency of selected numbers. The ecological type of the test site and its edaphic characteristics are fundamental for a successful breeding. **Methods.** The Vetch Spring selection results have been analyzed through an 80 year period, in terms of the effects of edaphic factors on the selection process, as a consequence of change of research locations and the intensity of the use of the selected site. **Results.** As a result of selection process in the periods between 1965–1980 and 1981–2010, in total a 45 year period, 18 grades of Vetch Spring were reanimated out of the 23 that were bred over the 80 year period. After a prolonged use of the breeding sites (more than three rotations of ten-course rotation) the phenomena of depression productivity arises, which leads to the diminishing of the effectiveness of the selection process. **Conclusions.** To maintain a high level of long term selection research, there is a necessity of alteration of the selection site or a recultivation of the site according to the principles of biological agriculture.

Key words: Vetch Spring, edaphic factors, extensive agriculture, depression of productivity, adaptation potential, recultivation.

СІРАЦЬКИЙ Й.З., БОЙКО О.В., КУЗЕБНИЙ С.В., ФЕДОРОВИЧ В.В.

Інститут розведення і генетики тварин НААН

Україна, 08321, Київська обл., Бориспільський р-н, с. Чубинське, вул. Погребняка, 1, e-mail:

bouko_lena@ua.fm

ПОКАЗНИКИ СПЕРМОПРОДУКТИВНОСТІ ТА МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ СПЕРМИ БУГАЇВ ГОЛШТИНСЬКОЇ ПОРОДИ

Сперма плідників характеризується значною різноманітністю гамет, яка обумовлена впливом різних генотипових і паратипових чинників. Внаслідок постійного підвищення інтенсивності їх використання виникає необхідність вивчення репродуктивної функції бугаїв з урахуванням цих факторів. Вивчення кількісних та якісних показників спермопродукції дає можливість розробити організаційні і технологічні заходи щодо раціонального використання бугаїв [3].

Дослідженнями Косенко М.В. та ін. [2], Сірацького Й.З. [4], Федорович Є.І. та ін. [5] доведені відмінності показників якості еякулятів та життєздатності спермій у бугаїв-плідників. У зв'язку з цим важливого значення набуває розробка методів оцінювання фізіологічного стану

статевих клітин.

Поглиблені знання з фізіології статевих клітин тварин виявлять фактори впливу на якість спермій, забезпечать оцінювання, відбір та прискорене накопичення високопродуктивного генетичного матеріалу [2].

Тому необхідно розробляти об'єктивні методи оцінки біологічної повноцінності спермій бугаїв, які б враховували фізіологічні параметри сперми плідників, що може бути використано для оцінки та прогнозування якості сперми.

Мета досліджень – встановити особливості спермопродуктивності бугаїв високопродуктивних молочних порід та провести оцінку відтворювальної здатності за морфо-фізіологічними параметрами сперми плідників.

Матеріали і методи

Досліджено основні кількісні та якісні показники спермопродуктивності 128 бугаїв голштинської породи з урахуванням різних парати-

пових чинників (ПП «Генетичні ресурси», ГСЦУ, Київське обласне племпідприємство).

Кількісні та якісні показники спермопро-

дуктивності оцінювали за загальноприйнятими методиками (ГОСТ 20909.3-75 – ГОСТ 20909.6-75 та ГОСТ 27777-88), при цьому враховували такі показники: об'єм еякуляту, рухливість, концентрацію, загальну кількість та кількість спермій з прямолінійно-поступальним рухом, кількість отриманих спермодоз з одного еякуляту та відсоток вибракуваних спермодоз.

Інтенсивність дихання визначали полярографічно згідно методики, описаної у довіднику «Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині» [1].

Резистентність спермій визначали шля-

Результати та обговорення

При аналізі показників спермопродуктивності (табл. 1) встановлено, що з віком кількісні та якісні показники сперми суттєво змінюються. Так, у бугаїв голштинської породи чорно-рябої масті за другий рік використання середній об'єм еякуляту збільшився на 0,7 мл ($P < 0,001$), рухливість статевих клітин – на 0,1 бал, концентрація спермій – на 0,12 млрд./мл ($P < 0,05$), кількість

хром додання 1 %-вого розчину натрію хлористого, кількість живих та мертвих спермій – за ГОСТ 20909.3-75 шляхом підрахунку під мікроскопом диференційно забарвлених 5 %-вим розчином еозину статевих клітин, виживаність спермій у годинах – за ГОСТ 27777-88 при $t=38$ °C після розморожування.

Результати досліджень опрацьовувались методом математичної статистики за М. О. Плохинським (1969) та Є.К. Меркур'євою (1970).

заготовлених спермодоз – на 41,1 шт. ($P < 0,001$), а відсоток вибракуваних спермодоз зменшився на 10,6 % ($P < 0,01$). У плідників голштинської породи червоно-рябої масті ця різниця становила відповідно 0,5 мл, 0,01 бала, 0,13 млрд./мл, 11,4 шт. та 5,5 %, при цьому ці зміни були статистично невірогідними.

Таблиця 1. Показники спермопродуктивності бугаїв-плідників голштинської породи, $M \pm m$

Показник	Голштинська порода			
	1-й рік використання		2-й рік використання	
	чорно-ряба масть (n=91)	червоно-ряба масть (n=37)	чорно-ряба масть (n=91)	червоно-ряба масть (n=37)
Об'єм еякуляту, мл	3,4±0,12	3,4±0,19	4,2±0,16	3,9±0,26
Рухливість спермій, бали	7,5±0,12	7,6±0,29	7,6±0,11	7,6±0,44
Концентрація спермій, млрд./мл	1,1±0,03	1,2±0,08	1,2±0,04	1,3±0,08
Загальне число спермій в еякуляті, млрд.	3,9±0,22	4,0±0,39	5,2±0,28	5,2±0,61
Загальне число спермій з ППР, млрд.	2,8±0,16	3,1±0,32	3,8±0,21	3,8±0,54
Отримано спермодоз, шт.	92,9±5,62	114,7±12,07	134,0±6,80	126,1±22,1
Вибракувано доз, %	24,4±2,98	24,6±3,06	13,8±1,49	19,2±2,53

Також відмічено, що у бугаїв голштинської породи за основними кількісними та якісними показниками спермопродуктивності різниці між плідниками чорно- та червоно-рябої масті статистично вірогідної різниці не встановлено.

Результати кореляційно-регресійного аналізу даних дали можливість виявити певні закономірності зв'язків між показниками спермопродуктивності бугаїв-плідників голштинської породи (табл. 2).

Найбільш тісні та статистично вірогідні кореляційні зв'язки встановлено між об'ємом еякуляту, рухливістю і концентрацією спермій та кількістю заготовлених спермодоз.

Також проводилось визначення фізіологі-

чних і морфологічних параметрів сперми плідників: виживаність, резистентність, кількість живих та інтенсивність дихання спермій (табл. 3).

Встановлено, що з віком показник дихання спермій збільшувався – його інтенсивність у бугаїв віком від 4 років і старше зросла у 1,2 раза або на 17 % порівняно з плідниками до 2-річного віку. Також з віком бугаїв незначно зростала резистентність спермій, яка збільшилась відповідно на 1,18 тис. од. або на 4,7 %.

Показник кількості живих спермій збільшувався до 4-річного віку бугаїв, а потім поступово знижувався, хоча різниця з віком плідників була статистично невірогідною.

Також встановлено, що з віком бугаїв зростає і виживаність спермій – порівняно плідниками до 2-річного віку цей показник збільши-

вся у 2–3-річних бугаїв на 3,9 %, 3–4-річних – на 9, 8, 4-річних і старше – на 11,37 %.

Таблиця 2. Кореляційні зв'язки між показниками сперми бугаїв голштинської породи

Пари ознак, які досліджувалися	$r \pm m_r$
Об'єм еякуляту – рухливість спермій	0,53±0,080***
Об'єм еякуляту – концентрація спермій	0,34±0,089***
Об'єм еякуляту – кількість заготовлених спермодоз	0,79±0,056***
Об'єм еякуляту – кількість вибракуваних спермодоз	-0,12±0,079
Рухливість спермій – концентрація спермій	0,55±0,079***
Рухливість спермій – кількість заготовлених спермодоз	0,76±0,062***
Рухливість спермій – кількість вибракуваних спермодоз	-0,13±0,090
Концентрація спермій – кількість заготовлених спермодоз	0,66±0,070***
Концентрація спермій – кількість вибракуваних спермодоз	-0,10±0,095
Кількість заготовлених спермодоз – кількість вибракуваних спермодоз	-0,12±0,092

Примітка. *** – $P < 0,001$.

Таблиця 3. Фізіологічні та морфологічні параметри сперми бугаїв-плідників голштинської породи (n=29), $M \pm m$

Вік бугаїв, роки	Сперма			
	нативна			розморожена
	дихання спермій, нг-атом $O_2/0,1$ мл	резистентність спермій, тис. од.	кількість живих спермій, %	виживаність спермій, год.
До 2 років	5,4±0,35	26,02±1,42	91,2±0,75	5,1±0,42
Від 2 до 3 років	5,9±0,33	26,35±2,45	91,7±0,73	5,3±0,34
Від 3 до 4 років	6,3±0,35	26,68±1,58	92,2±1,48	5,6±0,47
Від 4 років і старше	6,3±0,47	27,25±2,91	91,8±0,56	5,8±0,36

У таблиці 4 наведені кореляційні зв'язки між основними кількісними та якісними і фізіологічними показниками сперми бугаїв голштинської породи, статистично вірогідними з яких виявилися кореляційні відношення між інтенсив-

ністю дихання спермій та об'ємом еякуляту і рухливістю спермій; кількістю живих спермій і рухливістю та концентрацією статевих клітин; між виживаністю і концентрацією спермій ($P < 0,05$).

Таблиця 4. Кореляційні зв'язки між основними кількісними та якісними і фізіологічними показниками сперми бугаїв голштинської породи, $r \pm m_r$

Показник	Показник			
	дихання спермій, нг-атом $O_2/0,1$ мл	резистентність спермій, тис. од.	кількість живих спермій	виживаність спермій, год.
Об'єм еякуляту	0,38±0,178*	0,09±0,191	0,34±0,181	0,27±0,185
Рухливість спермій	0,35±0,180*	0,28±0,184	0,38±0,178*	0,34±0,181
Концентрація спермій	0,33±0,181	0,29±0,184	0,43±0,174*	0,36±0,179*
Кількість спермодоз	0,31±0,182	0,07±0,192	0,21±0,188	0,33±0,182

Примітка: * – $P < 0,05$.

Висновки

1. Аналіз показників спермопродуктивності бугаїв-плідників голштинської породи показав, що з віком середній об'єм еякуляту збільшився на 19,1 %, рухливість спермійів – на 1,3 %, концентрація статевих клітин – на 8,7 %, загальне число спермійів в еякуляті – на 31,6 %, число спермійів з прямолінійно-поступальним рухом – на 28,8 %, кількість отриманих спермодоз – на 25,3 %, а кількість вибракуваних спермодоз зменшилась на 8,0 %.

2. У бугаїв голштинської породи за основ-

ними кількісними та якісними показниками спермопродуктивності різниці між плідниками чорно- та червоно-рябої масті статистично вірогідної різниці не встановлено.

3. Фізіологічні параметри спермійів бугаїв також зростали з віком: дихання спермійів – на 17 %, резистентність статевих клітин – на 4,7 %, виживаність спермійів – на 11,4 % і пов'язані з віком плідників і з показниками спермопродуктивності (коефіцієнти кореляції склали від 0,07 до 0,38).

Література

1. Влізла В.В., Федорук Р.С., Ратич І.Б. та ін. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник за ред. В. В. Влізла. – Львів: СПОЛОМ, 2012. – 764 с.
2. Косенко М.В., Чухрій Б.М., Коцюмбас І.Я., Клевець Л.О. та ін. Репродуктивна функція і андрологічна диспансеризація бугаїв. – Львів, 2007. – 186 с.
3. Остапів Д.Д. Окисно-відновні процеси в статевих клітинах бугаїв і корів, способи оцінювання якості та підвищення запліднюваності: автореф. дис. д-ра с.-г. наук: 03.00.13. – Львів, 2008. – 39 с.
4. Сирацький Й.З. Физиолого-генетические основы выращивания и эффективного использования быков-производителей. – К.: УкрИНТЭИ, 1992. – 152 с.
5. Федорович Є.І., Сирацький Й.З. Західний внутрішньопородний тип української чорно-рябої молочної породи: господарсько-біологічні та селекційно-генетичні особливості. – Київ: Науковий світ, 2004. – 385 с.

SIRATSKIY Y.Z., BOYKO O.V., KUZEBNIY S.V., FEDOROVICH V.V.

Institute of Animal Breeding and Genetics NAAS

Ukraine, 08321, Kyiv region, Boryspil district, v. Chubinsky, Pogrebnyaka str., 1, e-mail: boyko_lena@ua.fm

INDICATORS PRODUCTION OF SPERM AND MORPHO-PHYSIOLOGICAL PARAMETERS SEMEN OF BULL-SIRES OF HOLSTEINS BREED

Aims. The purpose of research – set features production of sperm bulls high producing dairy breeds and assess reproductive ability on physiological parameters of semen bull-sires. **Methods.** The intensity of respiration was determined polarographic, resistance spermatozoa – by adding 1 % sodium-term chloride, the number of live and dead spermatozoa – by counting under the microscope differentially dyed 5 % solution of eosin sex cells, sperm survival in hours – at $t = 38$ °C after thawing. **Results.** Differences production of sperm and physiological indicators of bull-sires semen related to their age and suit, and conducted correlation and regression analysis between the major quantitative and qualitative indicators production of sperm bulls high producing dairy breeds and physiological parameters of semen. **Conclusions.** These results suggest that the physiological parameters of bull sperm increased with age and were associated with indicators production of sperm bull-sires of Holstein breed.

Key words: reproductive ability, bull-sire, semen, sperm survival, resistance sperm

СУПРУН С.М.¹, ДОНЧЕНКО Г.В.¹, ПАРХОМЕНКО Ю.М.¹, ХАРКЕВИЧ Е.С.²,
СТЕПАНЕНКО С.П.¹, ЛЯСОТА В.П.³, СИДНИЧЕНКО И.В.³, КУЧМЕРОВСКАЯ Т.М.¹

¹ Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины

Украина, 01601, Киев, ул. Леонтовича, 9, e-mail: sst@biochem.kiev.ua

² Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ

Украина, 03143, Киев, ул. Заболотного, 154

³ Белоцерковский национальный аграрный университет

Украина, 09117, Белая Церковь, Киевская обл., Соборная пл., 8/1

ВИТАМИННО-ПРОТЕИНОВЫЙ ПРОДУКТ НА ОСНОВЕ СЕЛЕКЦИОНИРОВАННЫХ ШТАММОВ ГРИБОВ: ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИМЕНЕНИЕ

В настоящее время микромицеты используются в различных отраслях народного хозяйства – защите окружающей среды, сельском хозяйстве, медицине. Они содержат природный комплекс биологически активных соединений. Более того, белок, который входит в состав грибов, по своему аминокислотному составу не уступает животному. От других богатых белком продуктов питания грибы выгодно отличаются низкой калорийностью и наличием пищевых волокон, что является основанием их использования для получения пищевых и кормовых до-

бавок. Микромицеты давно и успешно используются в биотехнологии для получения таких биологически активных соединений как липиды, пищевые волокна, ферменты, антибиотики, а также других фармакологических препаратов [1–3].

Цель исследований: разработка получения витаминно-протеинового препарата на основе селекционированных штаммов продуцентов витаминов, коферментов и белка и его испытания на животных.

Материалы и методы

Работа проводилась на основе селекционированных нами штаммов *Fusarium sambucinum* ИМВ F-10011 – продуцент комплекса биологически активных веществ, с преобладанием никотиновой кислоты и ее производных, *Fusarium sambucinum* ВКПМ F-139 – продуцент пантотеновой кислоты и кофермента А, *Mycelia sterilia*-ИМВ F 10014 - целлюлозолитических ферментов и белка, *Penicillium sclerotiorum* – β-каротина. Штаммы депонированы и хранятся в коллекции культур Института микробиологии и вирусологии НАН Украины. Микромицеты выращивали на синтетической питательной среде Чапека с мелассой (1 % по р.в.) в качестве источника углерода. Посевной материал (инокулят) готовили в колбах Эрленмейера на качалках при 240 об/мин в течение 24 часов. Ферментацию проводили при глубинном культивировании в колбах или в производственных условиях с использованием ферментера емкостью 1,2 м³ в ПП БТУ-Центре г. Ладыйжин. Среду для ферментации стерилизовали в автоклаве при 1–1,5 атм в течение 30 мин и засеивали 5 %-ным инокулятом. В производственных условиях культивирования получали порошкообразную форму препарата на основе штаммов *Fusarium sambucinum*. Определение витаминов и других биологически активных веществ проводили согласно методам [4, 5], аминокислоты определяли на аминокислотном

анализаторе ААА–339 (Чехия). Разделение липидов на фракции проводили методом тонкослойной хроматографии на пластинках, покрытых силикагелем. Метилловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) растворяли в гексане и хроматографировали на хроматографе HRGC 5300 (Италия) на стеклянной набивной колонке длиной 3,5 м, заполненной Chromosorb W/HP с нанесенной 10 % жидкой фазой Silar 5CP при программированной температуре 140–250⁰С с нарастанием 2⁰ в мин. Идентификацию, индивидуальных жирных кислот проводили с помощью стандартов фирмы «Sigma» и «Serva». Содержание индивидуальных жирных кислот выражали в процентах от общей суммы [6].

Витаминно-протеиновый препарат был протестирован на животных: перепелах и мышах. Опыты по доклиническому испытанию препарата проводили на перепелах и мышах. В опытные группы с перепелами (по 20 в каждой) к основному рациону прибавляли витаминно-протеиновую добавку в дозе 2,0 г/гол., 4,0 г/гол. или 6,0 г/гол. Длительность эксперимента составляла 60 дней, контрольную группу содержали на основном полноценном рационе. В серии опытов с мышами (по 5 особей в каждой группе) длительность экспериментов также составляла 60 суток. Животные, содержащиеся на стационарном рационе вивария, получали биопрепарат

в комплексе с основным рационом. Контролем служили мыши, которые содержались на стандартном рационе вивария.

Для оценки влияния витаминно-протеинового препарата использовали такие критерии: поведенческие реакции животных, выживаемость, показатели периферической крови (количество лейкоцитов, эритроцитов, лейко-

Результаты и обсуждение

Нами в результате проведения поэтапной селекции были получены штаммы продуценты витаминов, коферментов и белка. Изучены физиолого-биохимические свойства штаммов, что дало возможность подобрать штаммы для совместного культивирования. Среди них: *Fusarium sambucinum F-139* – продуцирует пантотеновую кислоту и кофермент А, *Fusarium sambucinum ИМВ F-10011* – активный продуцент комплекса витаминов, и в значительном количестве синтезирует никотиновую кислоту (1250-1400 мкг/г) и ее коферментные формы, и *Mycelia sterilia ИМВ-F 10014* целлюлозолитические ферменты и белок. Штаммы являются мезофилами и отличаются по оптимальным температурам роста, так оптимум роста *Fusarium sambucinum* составляет 24–26 °С, а при 37°С отмечено отсутствие роста. Для штамма *Mycelia sterilia* оптимальный рост наблюдался при температуре 28–30 °С. В лаг-фазе у *Fusarium sambucinum* отмечен наиболее высокий прирост биомассы, удельная скорость роста *Fusarium sambucinum-F-10011* – 0,34 ч⁻¹, *Fusarium sambucinum F-139* – 0,28 ч⁻¹, в то время как у *Mycelia sterilia* она составляла 0,13 ч⁻¹. Для совместного культивирования подобраны штаммы *Fusarium sambucinum ИМВ F-10011* и *Mycelia sterilia ИМВ-F 10014*, а также штаммы *Fusarium sambucinum*. При их совместном культивировании наблюдали значительное повышение со-

цитарная формула, свертываемость крови) и биохимические тесты: уровень белка, ферментов в сыворотке крови и отдельных ее фракциях, морфоструктура внутренних органов. Определение выше указанных показателей проводили общепринятыми методами согласно ветеринарным требованиям к доклиническим испытаниям [7].

держания имеющихся в них витаминов, а также сокращение сроков ферментации до 42 часов. При раздельном культивировании штаммов по общему выходу протеина (сумма аминокислот) преимущества имеет штамм *Fusarium sambucinum F-10011* в его биомассе содержится 305,7 мг на 1 г с.б., а в биомассе *Fusarium sambucinum F-139* – 276,8 мг на 1 г с.б., в то время как в биомассе *Mycelia sterilia* – 165,5 мг на 1 г с.б. Из незаменимых аминокислот мицелия штаммов *Fusarium sambucinum*, в значительном количестве содержится лизин, триптофан, лейцин, а у штамма *Mycelia sterilia* преобладают глутаминовая и аспарагиновая кислоты.

В штамме *Fusarium sambucinum* инденцифицировано 26 жирных кислот. Среди насыщенных жирных кислот преобладает пальмитиновая, а среди ненасыщенных жирных кислот – олеиновой, линолевой, линоленовой и арахидоновой, содержание которых у данного штамма составляет 70 %, преобладает линолевая кислота. Особенно ценно наличие арахидоновой кислоты, которая является предшественником простагландинов в организме животных и человека и входит в состав структурных элементов мембран (табл. 1). Такое высокое содержание ненасыщенных жирных кислот отмечено в плодовых телах некоторых высших базидиальных грибов [8].

Таблица 1. Жирнокислотный состав липидной фракции микромицетов (% от общей суммы)

Кислота	<i>Fusarium sambucinum F-100</i>	<i>Mycelia sterilia</i>	<i>Fusarium sambucinum F-139</i>
C16:0(пальмитиновая)	14,02	22,55	16,45
C18:0 (стеариновая)	3,95	2,55	3,22
C16:1(пальмитолеиновая)	1,02	1,55	1,14
C18:1(олеиновая)	23,09	7,17	27,98
C18:2(линолевая)	46,17	49,44	40,60
C18:3(линоленовая)	6,90	4,47	5,65
C20:4(арахидоновая)	1,08	6,19	1,80

Штаммы *F. sambucinum* по своим физиолого-биохимическим показателям, аминокис-

лотному составу, содержанию витаминов и жирных кислот являются перспективными для

использования в биотехнологии для получения отдельных витаминов, а также комплексов жирных кислот, пищевых и кормовых добавок, косметических средств. Показано, что выход определенных витаминов и коферментов при ферментации может быть повышен за счет добавления в инкубационную среду предшественников их биосинтеза. Полученные данные представляют интерес при постановке задачи разработки биотехнологии получения отдельных витаминов или коферментов.

Нами в производственных условиях в ПП БТУ – Центре г. Ладыжин была наработана партия грибного препарата на основе штаммов *F. sambucinum* и передана для проведения доклинических испытаний в Белоцерковский национальный аграрный университет. Витаминно-протеиновый препарат представляет собой комплекс природных биологически активных соединений (витаминов, коферментов, незаме-

мых аминокислот, микроэлементов, ненасыщенных жирных кислот). Он содержит значительное количество витаминов, в том числе, никотиновую кислоту и ее производные, в частности NAD^+ (6,0 мг/г а.с.в.), тиамин, витамин Е и витамин B_{12} .

Тестирование на животных: мышах и перепелах показало, что при введении в корм биопрепарата общее состояние мышей было удовлетворительным, корм они поедали полностью, водопотребление было обычным. Выживаемость животных в подопытных группах составила 100 %, прирост массы тела на 60 день составлял 10,3 %, а прирост биомассы перепелов – 10,5 %. В результаты исследований морфологических показателей крови установлены активация эритропоеза и увеличение уровня гемоглобина на 6,2 %. Количество эритроцитов и лейкоцитов у подопытных перепелов и мышей находилось в пределах физиологических норм (табл. 2).

Таблица 2. Влияние витаминно-протеиновой добавки на морфологические показатели крови перепелов через 60 дней кормления ($M \pm m$, $n = 20$)

№ п/п	Показатель, ед. измерения	Опыт 1	Опыт 2	Опыт 3	Контроль
1	Гемоглобин, Г/л	135,19±3,17	137,18±4,32	131,5±3,56	129,13±4,68
2	Эритроциты, Т/л	3,49±0,38	3,51±0,45	3,45±0,33	3,39±0,31
3	Лейкоциты, Г/л	26,07±0,58	28,62±0,65	25,61±0,60	25,08±0,70
4	Тромбоциты, Г/л	127,3±4,01	128,2±3,64	124,6±3,40	123,1±3,51

Что касается свертывающей способности крови, то она не претерпевала изменений. Изучение биохимических показателей сыворотки крови показало, что препарат повышает содержание общего белка на 2,4 %. В то же время, различий в концентрации глюкозы, общих липидов, холестерина, активности трансаминаз и

щело-чной фосфатазы не установлено. Белково-витаминная добавка повышала бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови. Показано, что витаминно-протеиновая добавка положительно влияет на яценоскость, а также увеличивается количество витаминов А и B_2 в яйцах перепелов (табл. 3).

Таблица 3. Содержание витаминов А и B_2 в яйцах перепелов через 60 дней кормления ($M \pm m$, $n = 20$)

Группа	Содержание витаминов, мг/%	
	Вітамін А	Вітамін B_2
Опыт1	0,52 ± 0,05	0,97 ± 0,01
Опыт2	0,50 ± 0,03	1,14 ± 0,02
Опыт 3	0,49 ± 0,01	0,93 ± 0,01
Контроль	0,47 ± 0,01	0,73 ± 0,01

Выводы

Разработанная биотехнология получения витаминно-протеинового продукта на основе совместного культивирования селекционированных штаммов – продуцентов белка, витами-

нов позволила сократить сроки ферментации и увеличить количество витаминов в конечном продукте. Витаминно-протеиновый продукт представляет собой природный комплекс биоло-

гически активных соединений, с высоким содержанием витаминов, незаменимых аминокислот, ненасыщенных жирных кислот. Результаты доклинического испытания грибного препарата показали положительное влияние его не только на прирост живой биомассы теплокровных животных, но, что очень важно, повышение бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови, что и способствовало повышению выжи-

ваемости молодых особей. Полученные данные свидетельствуют о возможности применения витаминно-протеинового продукта для повышения производственных показателей и природной резистенции сельскохозяйственных животных, а также для получения на основе грибов-продуцентов отдельных витаминов а также лекарственных средств.

Литература

1. Hobbs Ch. Medicinal mushrooms an exploration of tradition healing and culture. – Botanica press.. – Santa Cruz, С.А., 1995. – 251 p.
2. Беккер З.Е. Физиология и биохимия грибов. – М.: Изд-во Моск. ун-та, 1988. – 260 с.
3. Феофилова Е.П., Немцев Д.В., Терешина В.М., Козлов В.П. Полиаминосахариды мицелиальных грибов: новые биотехнологии и перспективы практического использования // Прикладная биохимия и микробиология. – 1996. – Vol. 32, № 5. – С. 483–492.
4. Экспериментальная витаминология: под редакцией члена-корр. АН БССР, доктора мед. наук Островского Ю.М. – Минск: Наука и техника, 1979. – 546 с.
5. Билай В.И. Методы экспериментальной микологии. – К.: Наукова думка, 1982. – С. 261–268.
6. Байдалинова Л.С., Кривич В.С., Бахлодина Л.П., Методические рекомендации и указания по газовой хроматографии жирных кислот. Калининград, 1977. – 33 с.
7. Коцюмбас І.Я. Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів. – Л.: Тріада плюс, 2006. – 360 с.
8. Горошина Е.С., Скворцова М.М., Высоцкий В.Г. Биотехнологический препарат лекарственного гриба кориола опушенного. Современная микология в России. Первый съезд микологов России. Тезисы докладов. Изд-во Национальной Академии микологии. – М., 2002.

SUPRUN S.M.¹, **DONCHENKO G.V.**¹, **PARKHOMENKO J.M.**¹, **STEPANENKO S.P.**¹, **KHARKEVICH E.S.**², **SIDNICHENKO I.V.**³, **LASOTA V.P.**³, **KUCHMEROVSKA T.M.**¹

¹ *Palladin Institute of Biochemistry of NAS of Ukraine
Ukraine, Kyiv, e-mail: sst@biochem.kiev.ua*

² *D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NASU
Ukraine, Kiev*

³ *Belotserkovskyy national agrarian university
Ukraine, 09117, Kiev region Belaya Tserkov, pl. Sobornaya, 8/1*

VITAMIN-PROTEIN PRODUCT BASED ON SELECTED STRAINS OF FUNGI: CHARACTERISTIC AND APPLICATION

Aim. Morphological, physiological and biochemical properties of select strain mycelial fungi-producing protein, vitamins, co-enzymes were studied. **Results.** It was established that strains of *Fusarium sambucinum* F-10011F F-139 have a high growth rate of 0,28–0,34 hour⁻¹, rich in essential amino acids, unsaturated fatty acids such as oleic, linoleic, linolenic and arachidonic. Especially valuable presence in fungi arachidonic acid, which is a precursor of prostaglandins in the body of animals and human, was found. The biotechnology of biopreparation based on physiology-biochemical properties was developed using joint cultivation of *Fusarium sambucinum* selected strains. This approach allowed reduce the terms of fermentation and increase the output of biologically active substances. The preparation includes high content of vitamins, unsaturated fatty acids and other biologically active substances. The results of preclinical testing of fungal product have revealed a positive impact not only the growth of living biomass of warm-blooded animals, but also an increase antibacterial and lysosyme activities of blood serum that led to increase of juveniles survival. **Conclusions.** Findings suggest the possibility to apply the developed vitamin-protein product for improvement enterprise performance and the natural resistance movement of farm animals for preparation fungal-producing drugs.

Keywords: biotechnology, vitamins, protein, food and feed additives.

ТИМИНА О.О.¹, ТИМИН О.Ю.², ТОМЛЕКОВА Н.³, ВАЛЧЕВ Н.Ю.⁴

¹ Приднестровский государственный университет имени Т.Г. Шевченко

Приднестровье, 3300, г. Тирасполь, ул. 25 Октября 128, e-mail: otimina@mail.ru

² Государственное учреждение Научно-исследовательский институт экологии и природных ресурсов

Приднестровье, 3200, Бендеры, Каховский тупик, 2, e-mail: otimin@mail.ru

³ Научно-исследовательский институт овощеводства «Марица»

Болгария, 4003, г. Пловдив, Березовско шоссе, 32, e-mail: nasia.tomlekova@gmail.com

⁴ Тракийский университет

Болгария, 6000, Университетский городок, г. Стара Загора, e-mail: af@uni-sz.bg

НАПРАВЛЕНИЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ СЕЛЕКЦИИ ОВОЩНОГО ПЕРЦА ДЛЯ УСЛОВИЙ ПРИДНЕСТРОВЬЯ И РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Будучи экономически значимой овощной культурой во многих странах Европы, Азии и Америки перец (*Capsicum annuum* L.) обладает высокими пищевыми, технологическими и вкусовыми достоинствами. В XX столетии на пост советском пространстве селекция перца овощного была ориентирована главным образом на выведение продуктивных и устойчивых к вертициллезному увяданию сортов. Однако после успешного создания серии сортов с различной степенью устойчивости к болезни требования к культуре трансформировались. Процесс выведения новых сортов и гибридов стал обуславливаться с одной стороны изменением физиологических потребностей и предпочтений человека, а с другой – условиями и возможностями выращивания культуры, воздействиями биотических и абиотических стрессоров на формирование урожая плодов, а также развитием новых технологических приемов выращивания. Приоритетными и актуальными направлениями стали такие как создание сортов с устойчивостью к вирусным и фитоплазменным заболеваниям с разнообразной продолжительностью фенологических фаз, различной формой и окраской перикарпия, с улучшенными биохимическими показателями для целевого функционального питания и в частности с более высоким содержанием витаминов антиоксидантов в плодах. В связи с увеличением требований к комплексу признаков у овощного перца результативным и особенно востребованным направлением оказалась селекция на гетерозис. Целью наших исследований явилось создание новых сортов и гибридов овощного перца с комплексом хозяйственно-ценных признаков (ХЦП), отвечающих современным требованиям селекции культуры.

Для успешной селекции овощного перца по всем направлениям нужны надежные идентифицированные доноры (ХЦП). Однако в настоящее время отмечается отсутствие единой

базы данных по идентифицированным генам ХЦП, и особенно тем, которые определяют наиболее ценные количественные признаки, обусловленные комплексом координировано экспрессирующихся полигенов, формирующих генные сети. Поэтому в задачи исследований входило: идентификация доноров с высокими показателями изучаемых признаков, уточнение составных элементов генных сетей этих признаков и определения закономерностей их вариативности, обуславливающей норму реакции конкретных ХЦП. При этом лимитирующие факторы среды рассматривались в качестве триггеров, переопределяющих работающий состав генной сети ХЦП.

Материалом для исследования послужил питомник овощного перца на основе *Capsicum annuum* var. *annuum* L., поступивший из Всероссийского научно-исследовательского института растениеводства, дикий и полукультурный генфонд рода *Capsicum*, полученный из Белтвилского генцентра (США), которые были детально оценены по признакам устойчивости к наиболее распространенным заболеваниям. Тестировались ХЦП у коллекционного и селекционного материала лаборатории селекции Приднестровского НИИ сельского хозяйства, а также сорта и гибриды перца других научно – исследовательских учреждений и селекционных организаций. В селекционной работе был использован мутантный материал с ценными признаками: мужской стерильностью (ген *ms-3*, *ms-8*), устойчивостью к болезням, высоким содержанием в-каротина (ген *bc*), с повышенным содержанием антиоксидантов из группы флавоноидов и каротиноидов (гены *A*, *Im*) в перикарпии [4–7]. Агротехника, используемая в опытах, была общепринятой, а селекционный материал оценивался комплексно по спорофиту и гаметофиту. У спорофита изучали раннеспелость, устойчивость к болезням, а также комплекс ХЦП, обуславли-

вающий продуктивность. Содержание витаминов в плодах определяли по ГОСТ – 8756.22-80, ГОСТ 24556 и (в-каротин) методом ВЭЖХ. Создание сортов и гибридов F₁ проводилось согласно Методическим рекомендациям по селекции культуры, 1976, 1997 гг. Семеноводство гибридов разрабатывалось на фертильной и стерильной основах. Для ведения семеноводства на стерильной основе создали и использовали линии с генной мужской стерильностью (ГМС) с мутантными генами *ms-3* и *ms-8*, на базе болгарских доноров (БАН, София). Для оценки комбинационной способности родительских форм применялся метод топкросса. Все полученные данные математически обрабатывали с помощью программы Statistica 6.0 для персонального компьютера.

Результаты реализации генетической программы по созданию генофонда Capsicum с комплексом ХЦП

В результате многолетних исследований по селекционно-генетическому мониторингу рода *Capsicum* [1] были выделены источники и доноры ХЦП раннеспелости, высокого содержания биологически-ценных компонентов в плодах, устойчивости к болезням, продуктивности, а также по комплексу ХЦП. Выведенные перспективные генетически разнокачественные новые линии перца легли в основу практического осуществления генетической программы по созданию генофонда перца для различных условий возделывания, отвечающего современным требованиям селекции культуры. Разработанный подход по регрессионно-кластерной оценке комплекса доминантных аллелей у генотипов, контролирующих ХЦП, позволил вести селекцию идентифицированного материала и целенаправленно подбирать пары для скрещивания [2–5]. Лучшие выведенные линии и гибриды были включены в конкурсное сортоиспытание, по результатам которого сорта–кандидаты и гибриды были переданы в Государственное сортоиспытание, большинство из которых успешно его прошли и были районированы и допущены к использованию (табл.).

Раннеспелые сорта с комплексной устойчивостью к заболеваниям и улучшенным биохимическим составом

Новые сорта из группы ультрараннеспелых букетных Добрыня Никитич и Ермак превосходят стандарт по общему урожаю, крупности плодов, толщине перикарпия, слабой поражаемости вершинной гнилью. Сорт Ермак рекомендован к использованию с 1999 года по шести областям Центрально-Черноземного и шести

областям Дальневосточного регионов Российской Федерации, а сорт Добрыня Никитич – для выращивания в частном секторе во всех зонах возделывания культуры в России и Приднестровья.

В группе среднерослых раннеспелых сортов хорошо зарекомендовали себя Тополин, Прометей, Катюша. Сорт Тополин с 1989 г. был районирован в Азербайджанской ССР и пяти областях Казахской ССР, а также в Российской Федерации и остается востребованным производством в течении 20 лет за раннеспелость, выносливость к болезням, высокую товарность. Он рекомендован к выращиванию в открытом грунте в Северо-Кавказском и Дальневосточном регионах, охватывающих 16 краев, областей и республик России. Хорошие результаты показал и новый сорт Катюша. Сохраняя лучшие признаки стандарта: толерантность к болезням, раннеспелость, продуктивность, высокие показатели по качеству плодов, – в дополнение продемонстрировал преимущества по содержанию витамина С в плодах. В новом желтоокрашенном сорте по содержанию в-каротина удалось не только достичь уровня обычных красноплодных сортов, но и превысить его на 30 %. Сорт Катюша выращивается с 2003 года в 10 краях и республиках Северо-Кавказского региона и 7 областях, краях и республиках Восточно-Сибирского региона.

Сорт Прометей превышает стандарт по раннему урожаю за счет более короткой первой вегетационной фазы, в 2–4 раза по содержанию в-каротина, а также и по устойчивости к мозаике. Сорт успешно прошел государственное испытание по Российской Федерации и находится в Реестре сортов и гибридов.

Раннеспелые гибриды на стерильной основе с улучшенным биохимическим составом, толерантные к заболеваниям

Стерильные материнские линии с ГМС создавали рекуррентной селекцией, чередуя индивидуальные отборы с многократным беккроссированием. Для этого пирамидировали лучшие селекционные линии с комплексом ХЦП генами устойчивости к вертициллезному увяданию с одновременным проведением отборов по устойчивости к болезням на провокационном фоне и геном *ms-3* в зимне-весеннем обороте в стеклянных и в пленочных необогреваемых теплицах. В результате проведенной работы были получены стерильные материнские линии с традиционной формой и окраской плодов, толерантностью к вертициллезному увяданию.

Таблица. Характеристика сортов и гибридов, созданных в результате селекционно-генетического мониторинга *Capsicum*, и внесенных в Государственный реестр Российской Федерации за период 1984–2009 гг.

Название сорта, гибрида F1	Продолжительность фенофазы (дни от всходов до спелости)		Масса плода, г	Форма и цвет плода в технической/ биологической спелости	Урожайность, кг/м ²	Устойчивость к болезням	Химический состав в биологической фазе спелости				Год внесения в реестр
	Технической	Биологической					Сухие вещества, %	Общий сахар, %	Витамин С, мг/ 100 г с.в.	Бета-каротин, мг/ 100 г с.в.*	
Ультрараннеспелые букетные сорта											
Ермак	95–110	114–128	60–120	Призмов. – конусов. Светлозел./темно красный	3–3,5	Ve	5–6	3,0 – 3,8	99–175	16,4	1999
Добрыня Никитич	95–110	113–128	80–120	Призмов. – конусов. Желтозел./красный	3,5–3,7	Ve	5–6	2,9 – 3,9	125–163	6,7	2000
Среднерослые раннеспелые сорта											
Тополин	110–120	130–140	100–150	Конусов.– призмов./светлозел./красный	4–10	Мозаика (Сm v)	6–7	2,9 – 3,4	164–190	14,9	1984
Прометей	118–125	138–140	100–140	Конусов.– призмов./светлозел./красный	4,9–10	Мозаика, Ve	6–8	3,4 – 4,6	156–190	32,7	2000
Катюша	100–105	125–135	70–120	Конусов./светлозел./оранж.–желтый	5–9	Ve	7–8	3,5 – 4,1	190–240	29,3	2003
Раннеспелые гибриды на стерильной основе											
Юбилейный Семко	98–105	125–135	90–110	Конусов. призмов./светлозел./красный	6–12	Мозаика, Ve	6–7	3,2 – 3,8	128–180	23,6	1997
Раннеспелые гибриды на стерильной основе с улучшенным биохимическим составом											
Витамин	105–110	135–140	60–95	Конусов./светлозел./оранж.–красный	6–12,5	Мозаика, Ve	7–9	2,5 – 3,2	250–280	90,2	2006

Примечание. * – в пересчете на сухое вещество.

Предварительное изучение комбинационной способности в топкроссе выявило преимущество по показателям СКС линии 5/92. Ее фертильный аналог при использовании в качестве отцовской формы характеризовался и высокой ОКС. Данная линия в отличие от других потенциально проявляет гетерозис за счет доминантных и плейотропных эффектов полигенов раннеспелости и крупности плодов. Многолетнее изучение гибридов на стерильной основе выявило преимущество гибридной комбинации Л5/92 х Т-119/8 по комплексу ХЦП. Плоды гибрида имеют привлекательный вид и высоко оцениваются потребителем за конкурентоспособность на рынке. Гибрид относительно хорошо сохраняет завязь в неблагоприятных условиях. Данный гибрид F₁ под названием Юбилейный Семко (табл.) с 1997 г. включен в Реестр сортов России и Белоруссии, и особенно хорошо себя зарекомендовал по Ростовской и Астраханской областям, Краснодарскому краю и в республиках Закавказья. Гибрид ценится за раннеспелость, высокую урожайность при упрощенной технологии выращивания, выносливость к болезням, отличные вкусовые качества, привлекательный внешний вид.

В связи с потребностями рынка к высококачественной продукции, ориентированной на функциональный продукт, были созданы новые высококаротеновые родительские линии на стерильной основе методом рекуррентной селекции

на основе линии 5/92. Стерильная высококаротеновая материнская форма представляет собой популяцию по двум рецессивным генам, которая поддерживается в гетерозиготном состоянии с наиболее типично выраженным комплексом ХЦП.

В качестве отцовских линий были использованы формы из высококаротенового питомника, дополняющие материнские, с комплексом ХЦП. Проведенный анализ ОКС и СКС использованных ms-линий и линий-опылителей показал, что высокий урожай коррелирует в основном с повышенными показателями СКС, что совпадает с ранее полученными данными по гибриду Юбилейный Семко, а высокое содержание в-каротина – как с ОКС, так и с СКС. Используя новые линии с генами ms и bc методом топкросса, был получен ряд гибридов F₁. Лучшим из них по комплексу признаков оказался гибрид Витамин F₁ Л 61/1 х Л 29, который по содержанию в-каротина в 2,5–3 раза превосходит стандарт (табл.). Гибрид включен в Госреестр России по Северокавказскому региону с 2007 года для выращивания в открытом грунте и под пленочными укрытиями.

Таким образом, на основе селекционно-генетического мониторинга *Capsicum* реализована генетическая программа по созданию генофонда с комплексом ХЦП, результатом которой явились новые сорта и гибриды с заданными параметрами.

Литература

1. Тимина О.О. Селекционно-генетическая характеристика исходного материала *Capsicum L.* по основным хозяйственно-ценным признакам // Автор. доктор биол. Наук / – М.: МСХА им. К.А.Тимирязева, 2012. – 46 с.
2. Тимина О.О., Рябова А.С. Об идентификации ключевых аллелей хозяйственно-ценных признаков у овощного перца *Capsicum annuum L.* Регрессионно-кластерным анализом // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – №1. – С. 40–50.
3. Тимина О.О., Рябова А.С. Закономерности проявления гетерозиса у овощного перца *Capsicum annuum L.* в зависимости от степени идентичности ключевых аллелей хозяйственно-ценных признаков // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – №1. – С. 66–75.
4. Тимина О.О., Тимин О.Ю., Федоров С.К. Норма реакции признака высокое содержание в-каротина в генофонде *Capsicum annuum var. annuum L.* в связи с селекцией на качество // Сельскохозяйственная биология. – 2011 а. – №5. – С. 69–75.
5. Тимина О.О., Тимин О.Ю., Федоров С.К., Томлекова Н. Наследование окраски перикарпия и содержание в-каротина у овощного перца // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011б. – Т. 15, №3. – С. 540–549.
6. Тимин О.Ю., Тимина О.О., Монтвид П.Ю., Самовол А.П. Цитолого-генетическая характеристика нового мутанта овощного перца *Capsicum annuum var. annuum L.* // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013 / в печати.
7. Tomlekova N., Todorova V., Daskalov S. Creating variation in pepper (*Capsicum annuum L.*) through induced mutagenesis // Plant Sciences. – 2007. – №44. – P. 44–47.

TIMINA O.O.¹, TIMIN O.Y.², TOMLECOVA N.³, VALCHEV N.Y.⁴

¹ Shevchenko State University of Transnistria

Moldova, 330025, Tiraspol, Transnistria, October str., 128, e-mail: otimina@mail.ru

² Scientific-Research Institute of Ecology and Natural Resources

Moldova, 3200, Bender, Transnistria, Kakhovka stumped, 2, e-mail: otimin@mail.ru

³ Scientific Research Institute of Vegetable Growing «Maritza»

Bulgaria, 4003, Plovdiv, Brezovsko Shosse, 32, e-mail: nasia.tomlekova@gmail.com

⁴ Tracian University

Bulgaria, 6000, Campus, Stara Zagora, e-mail: af@uni-sz.bg

THE DIRECTION AND RESULTS OF THE BREEDING OF VEGETABLE PEPPER FOR TRANSNISTRIA AND RUSSIAN FEDERATION.

Aims. The objective of our research was the creation of new varieties and hybrids of vegetable pepper with the complex of economically-valuable traits adequate to modern requirements of culture. **Methods.** The creation of varieties and hybrids F₁ was conducted using crosses backcrosses and recurrent selection with best identified donors with complex economically-valuable traits including mutant gene pool. Seed production of hybrids was developed on fertile and sterile background. **Results.** Breeding and genetic monitoring of *Capsicum* gene pool resulted in new varieties and hybrids with the given parameters. **Conclusions.** Five varieties and two hybrids have been developed with a complex of economically-valuable traits adequate to modern requirements of culture.

Key words: *Capsicum annuum* var. *annuum*, gene pool, economically-valuable traits, breeding and genetic monitoring, varieties, hybrids.

ХЛЕБНИКОВ В.Ф., СМУРОВА Н.В.

Приднестровский государственный университет имени Т.Г. Шевченко

Приднестровье, 3300, г. Тирасполь, ул. 25 Октября, 128, e-mail: v-khl@yandex.ru

ФЛУКТУАЦИЯ МАССЫ СЕМЕНИ *CUCURBITA PEPO* VAR. *GIRAMONTIA* DUCH. В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА И ПОГОДНЫХ УСЛОВИЙ ГОДА РЕПРОДУКЦИИ

Семена являются важнейшим элементом самовоспроизводства объектов растительного мира и поддержки его структуры в пространственном и временном аспекте [5].

Одним из показателей качества семян является масса семени. Являясь количественным признаком, масса семени, представляет собой результат взаимодействия генотип-среда, т.е. развивается в результате работы единой системы: меняющихся лимитирующих факторов среды внутри и между фазами онтогенеза и лабильных спектров и чисел генов, блуждающих соответственно смене лим-факторов среды. Это позволит управлять амплитудой генетической изменчивости количественного признака в популяции посредством внешних лим-факторов [1].

Известно, что признаки семени по сравнению с вегетативными органами изменяются более слабо, проявляя автономность и защищенность всей системой генетической ус-

тойчивости растительного организма [6]. Однако стабильность этих признаков от факторов внешней среды относительна и при помещении растений в новые условия среды они могут быть более подвержены изменениям [7].

Следовательно, познание реакций, в частности изменчивости морфометрических признаков семян, на действие экстремальных факторов является необходимым не только для изучения стратегии выживания растений в неблагоприятных условиях, но и для разработки методов повышения урожайных свойств семян в культуре.

Цель исследований: изучить флуктуацию массы семени *Cucurbita pepo* var. *giramontia* Duch. на погодные условия года репродукции.

Материалы и методы. Изменчивость массы семени изучали в зависимости от двух факторов: генотип и «год» (совокупность агрометеорологических условий). Объект исследований семена кабачка 3 форм, различающихся по морфометрическим характеристикам (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика исследуемых форм кабачка

Форма	Размер	Масса, мг	V, %	Скороспелость
166/5	средней величины	105,2	14,5	скороспелая
19/84	семена мелкие	79,2	36,4	раннеспелая
98/5	среднекрупные	143,7	24,9	скороспелая

Исследования проводили на опытном поле Ботанического сада ПГУ в условиях 2005–2006 и 2008–2011 гг., которые различаются по температуре воздуха и количеству осадков в период вегетации растений.

В лабораторных условиях определяли среднюю массу семени каждого образца с помощью торсионных весов ВТ-500.

Для расчета экологической пластичности использовали методику Eberhart и Russel [2] и Кильчевского, Хотылевой (1985 а, б).

Результаты и обсуждение. Изучаемые формы кабачка по массе семени достоверно различались между собой в каждый из годов исследований. Исключением являются 2008 и 2009 годы в условиях, которых различия между формами недостоверны ($F_{05} \leq F_T$).

Форма 98/5 характеризуется наибольшей массой семени в 2005 и 2006 годах, что на 35; 28 % больше средней массы семени для данной формы за годы исследований соответственно и уменьшает признак в 2010–2011 годы, на 5,6; 11,3 % соответственно. Форма 166/5 наоборот формирует наибольший вес семян в 2010–2011 годы, масса семени увеличивается на 42,9; 15,1 % соответственно и уменьшает массу семени в 2005–2006 годы. В 2005 году масса семени формы 166/5 практически равна средней по опыту для данной формы, превышая ее на 0,9 %. В 2006 году масса семени уменьшается на 5,5 %. Форма 19/84 значительно увеличивает массу

семени в 2011 году, на 46 %.

Таким образом, исследуемые формы по массе семени реагировали различно на изменения напряженности метеорологических факторов. Наиболее благоприятными условиями (увеличение массы семени) были 2005–2006; 2010–2011 гг., о чем свидетельствуют индексы условий среды: $I_j = 11,6; 3,7; 6,4; 14,0$ соответственно. Признак масса семени уменьшался в 2008–2009 гг., $I_j = -9,6; -27,1$ соответственно.

Реакции исследуемых форм на условия года репродукции семян кабачка могут быть линии регрессии (рис. 1).

Пересечение средней по опыту, коэффициент регрессии которой всегда равен единице, с ординатой массы семени, восстановленной из точки с индексом условий среды, равной нулю, фиксирует среднюю массу семени по опыту 97,6 мг. Линии регрессии массы семени форм 98/5 и 166/5 пересекают ординату выше точки средней по опыту, что объясняется более высокой массой семени в среднем. Однако с ухудшением условий линия регрессии массы семени формы 166/5 находится ниже всех. Форма 98/5, также уменьшает массу семени при ухудшении условий. В благоприятных условиях формы 98/5 и 166/5 увеличивают массу семени. Форма 19/84 характеризуется наименьшей массой семени в сравнении со средней по опыту. Линия регрессии формы 19/84 характеризуется низкой отзывчивостью к условиям года.

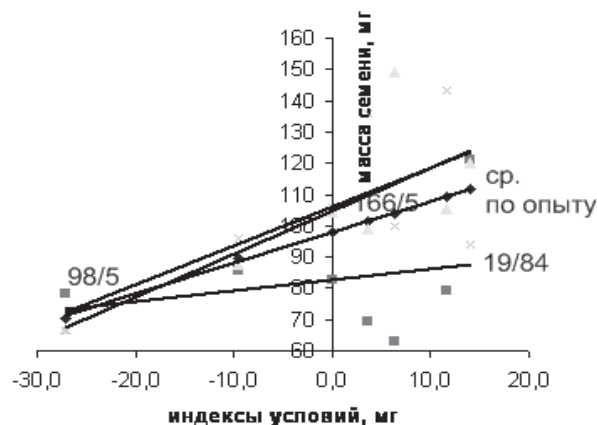


Рис. 1. Линии регрессии массы семени на изменение условий года репродукции

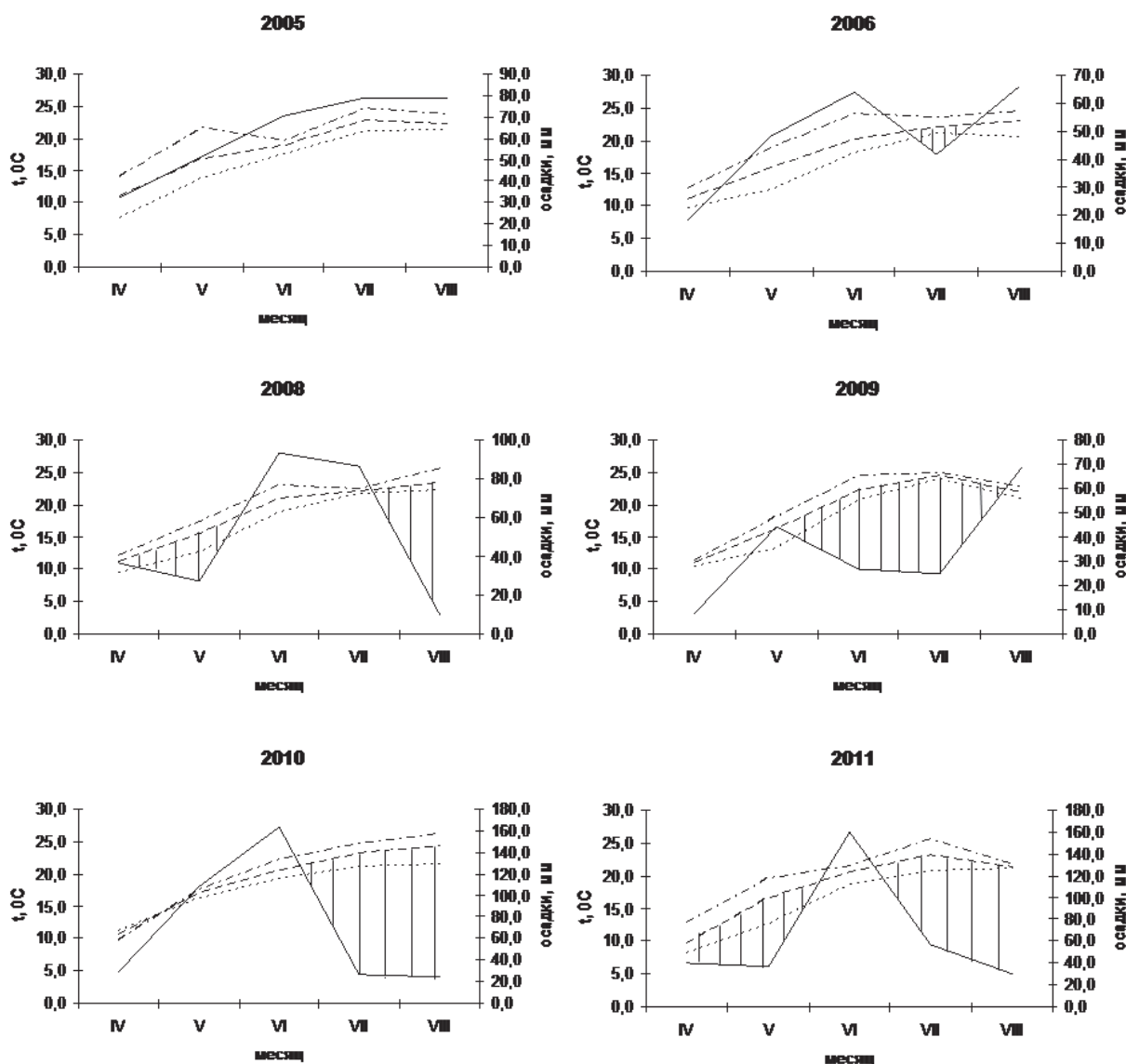


Рис. 2. Климатограммы по данным метеостанции г. Тирасполя (заштрихованный участок показывает засушливый период)

Примечания: — — — среднедекадная температура — осадки
 - - - - - минимальная температура — · — · — максимальная температура

Годы репродукции семян различались по метеорологическим условиям, особенно по характеру распределения атмосферных осадков.

Наиболее продолжительный засушливый период наблюдался в 2009 году, июнь-июль месяцы, период когда происходит завязывание и формирование плодов. В 2008 году засуха наблюдалась в мае, когда происходит дифференциация и формирование генеративных органов и в августе, когда происходит налив семян. 2010 год характеризовался продолжительным периодом засухи в июле-августе в период плодоношения и налива семян. 2011 год также характеризовался продолжительными засушливыми пе-

риодами, которые прерывались в июне значительным превышением количества осадков в два раза превосходящие среднемноголетние данные

Исходя из анализа засушливых периодов можно выделить два критических периода – май и июнь месяцы, т.е. периоды дифференциации и формирования генеративных органов, цветения и завязывания плодов.

В зависимости от напряженности метеорологических факторов в период выращивания семян доля влияния фактора «год» и генотипа на массу семени кабачка изменялась (табл. 2).

В годы с положительным индексом среды влияния генотипа на формирование массы семе-

ни было наибольшим и составило 63,6 %. Взаимодействие факторов год репродукции и генотип в формировании массы семени составило 33,6 %. В годы с отрицательным индексом среды дисперсионный анализ показал значительное

влияние фактора «год» на формирование массы семени (76,2 %), на влияние генотипа приходилось 3,4 % и на взаимодействие факторов – 16,9 %.

Таблица 2. Доля влияния факторов на массу семени кабачка, %

Фактор	\bar{X} за годы исслед.	2005–2006; 2010–2011	2008–2009
Условия года (А)	16,6	2,6	76,2
Генотип (В)	28,8	63,6	3,4
Взаимодействие (А×В)	53,6	33,6	16,9

Результаты дисперсионного анализа указывают на наличие существенных различий средней массы семени исследуемых форм в зависимости от условий годов исследований и значимость различий между коэффициентами регрессии ($F_{\phi} > F_{05}$). Различия по величине показателя стабильности $\delta^2 d$ между формами не зна-

чительны ($F_{\phi} < F_{05}$), т.е. в данном наборе нет форм, устойчивость массы семени которых была бы специфической.

Общая оценка генотипов по параметрам, определяющим адаптивную способность и стабильность, представлена в табл. 3.

Таблица 3. Параметры адаптивной способности и стабильности генотипов

Генотип	$u+v_i$	v_i	$\delta^2(G \times E)g_i$	$\delta^2 CAC_i$	δCAC_i	I_{gi}	s_{gi}	СЦГ _i	K_{gi}	Параметры Эберхарта, Рассела	
										b_i	S_{di}^2
19/84	82,7	-15,0	458,0	375,9	19,4	1,2	23,5	44,6	1,9	0,3	611,6
166/5	104,3	6,6	348,7	762,8	27,6	0,5	26,5	104,3	3,8	1,3	466,7
98/5	106,0	8,3	441,3	786,3	28,0	0,6	26,5	106,0	4,0	1,2	586,7

В среднем за годы исследований форма 19/84 обладает наименьшими семенами и отрицательным эффектом генотипа, формы 166/5 и 98/5 крупными семенами и положительным эффектом генотипа. Наибольшими эффектами ОАС обладают формы 166/5 и 98/5. Они же являются самыми нестабильными. Выявлена тесная связь между показателями продуктивности $u+v_i$ и стабильности $\delta^2 CAC_i$ ($r = 1$). Форма 166/5 имеющая низкую вариацию взаимодействия генотипа и среды $\delta^2(G \times E)g_i$, оказалась нестабильной, что свидетельствует о проявлении дестабилизирующего эффекта. О чем свидетельствует и

коэффициент компенсации K_{gi} , у всех исследуемых генотипов он выше 1, что свидетельствует о преобладании эффекта дестабилизации. Относительная стабильность генотипов s_{gi} у всех исследуемых генотипов практически одинакова. Коэффициент нелинейности I_{gi} показал, что у форм 166/5 и 98/5 ответы на среду носят линейный характер (0,5–0,6); у формы 19/84 – нелинейный (1, 2). Судя по величине b_i образец 19/84 слабо реагирует на изменение условий среды. Наиболее изменчивыми являются образцы 166/5 и 98/5, которые изменяют массу семени в зависимости от условий года репродукции.

Выводы

Флуктуация массы семени *Cucurbita pepo* var. *giramontia* Duch. определяется особенностями генотипа и зависит от метеоусловий года репродукции. Установлено, что форма 19/84 уве-

личивает массу семени в неблагоприятных погодных условиях. Формы 166/5 и 98/5 – в благоприятных условиях репродукции.

Литература

1. Драгавцев В.А. Проблемы преодоления разрывов между генами и признаками в современной селекции // Известия ТСХА. – 2009. – Вып. 2. – С. 110–122.
2. Зыкин В.А., Мешков В.В., Сапега В.А. Параметры экологической пластичности сельскохозяйственных рас-

- тений и их расчет и анализ: Метод. рекомендации. – Новосибирск: СО ВАСХНИЛ, 1984. – 24 с.
3. Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Метод оценки адаптивной способности и стабильности генотипов, дифференцирующей способности среды: Сообщение I // Генетика. – 1985. – Т. XXI, №9. – С. 1480–1489.
 4. Кильчевский А.В., Хотылева Л.В. Метод оценки адаптивной способности и стабильности генотипов, дифференцирующей способности среды: Сообщение II // Генетика, 1985. – Т. XXI, №9. – С.1490–1498.
 5. Марков М.В. Популяционная биология растений. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2012. – 387 с.
 6. Овчаров К.Е. Физиология формирования и прорастания семян. – М.: Колос, 1976. – 256 с.
 7. Синская Е.Н. Динамика вида. – М.-Л.: ОГИЗ-Сельхозгис., 1948. – 526 с.

KHLEBNIKOV V.F., SMUROVA N.V.

Transnistrian state university «T.G. Shevchenko»

Transnistria, 3300, Tiraspol, October 25 str., 128, e-mail:v-khl@yandex.ru

FLUCTUATION OF WEIGHT OF THE SEED OF *CUCURBITA PEPO* VAR. *GIRAMONTIA* DUCH. IN DEPENDENCE FROM THE GENOTYPE AND WEATHER CONDITIONS OF YEAR OF THE REPRODUCTION

Aims. It is known that seed signs in comparison with vegetative bodies change more poorly. However stability of these signs from factors of environment is relative and when placing plants in new conditions of the environment they can be more subject to changes. **Methods.** Researches conducted in the conditions of 2005–2006 and 2008–2011. For calculation of ecological plasticity used methods of Eberhart, Russel (1966) and Kilchevsky, Hotyleva (1985). **Results.** Studied forms of a squash on the mass of a seed significantly differed among themselves in each of years of researches. Exception are 2008 and 2009 in conditions which distinctions between forms are doubtful. It is established that the sample 19/84 poorly reacts to change of weather conditions. The most changeable are samples 166/5 and 98/5. **Conclusions.** Fluctuation of weight of a seed of *Cucurbita pepo* var. *giramontia* Duch. is defined by features of a genotype and depends on weather conditions of year of a reproduction.

Key words: seed, weight, fluctuation, genotype, conditions of year.

ЮДАНОВА С.С.¹, МЕЛЕНТЬЕВА С.А.², МАЛЕЦКАЯ Е.И.¹, ТАТУР И.С.², МАЛЕЦКИЙ С.И.¹

¹ *Институт цитологии и генетики СО РАН*

Россия, 630090, г. Новосибирск, пр. ак. Лаврентьева, 10, e-mail: sonia@bionet.nsc.ru

² *Опытная научная станция по сахарной свекле НАН Беларуси*

Беларусь, 222603, Минская обл., г. Несвиж, ул. Озерная, 1

ХОЗЯЙСТВЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ДИГАПЛОИДОВ И УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS* L.)

Способы репродукции семян играют ключевую роль при создании новых сортов и гибридов. Переход от перекрестного опыления к самоопылению у кукурузы привел к созданию гибридного метода селекции. Установлено, что в F₂ и последующих поколениях его эффект затухает [1, 2]. Объясняется это либо взаимодействиями неаллельных доминантных генов, либо внутрилокусными взаимодействиями (гипотеза «сверхдоминирования») [3]. Селекционно-генетические исследования гетерозиса у кукурузы и риса позволили усомниться в корректности гипотезы сверхдоминирования. «По большинству локусов наиболее популярные и продуктивные простые гибриды (F₁) оказались гомозиготны ... Итоги многих исследований свидетельствуют, что эпистаз по множеству локусов играет ведущую роль

в эффекте гетерозиса у гибридов F₁ кукурузы и риса» [2]. Действительно, селекционеры работают не с отдельными локусами, а оценивают общую и специфическую комбинационную способность линий, сочетая его с жестким отбором.

Известно, что продуктивность посева – это не арифметическая сумма продуктивности отдельных растений, а групповой признак, формируемый совместно произрастающими растениями [4]. Кроме того продуктивность посева определяется тем, какие части растения используются в качестве конечного продукта. Поэтому механизмы гетерозиса у разных растений не могут быть одинаковыми. Гибриды F₁ и F₂ у длинностебельных растений существенно различаются по однородности. В поколении F₂ у кукурузы с более короткими стеблями будут угнете-

ны и из-за недостатка света и не сформируют початок. В этом случае падение «гетерозиса», связано не с понижением уровня гетерозиготности растений, а с изменениями структуры листового полога в структуре посева. Конкуренция за свет у розеточных растений, к числу которых относится сахарная свекла, носит иной характер. Гетерогенность у таких растений может как понизить, так и повысить выход биомассы за счет оптимизации структуры листового полога [5]. Исследования анизоплоидных гибридов сахарной свёклы свидетельствуют о 10–15 % повышении хозяйственной продуктивности по сравнению с их диплоидными и тетраплоидными компонентами [6]. Природа высокого уровня хозяйственной продуктивности в данном случае связана не столько с эффектом гибридной мощности, сколько с эффектом сверхкомпенсации: посев сформирован из растений различного уровня пloidности с разной геометрией листовых розеток, которые эффективнее используют солнечный свет [7].

Системе репродукции семян у сахарной свеклы характерен полиморфизм: возможна как зиготическая репродукция (перекрестное опыление и самоопыление), так и однопородительское (партеногенетическое или апозиготическое) размножение.

Как показали более ранние исследования, при беспыльцевой репродукции апозиготические семенные потомства представлены дигаллоидами. В таких потомствах наблюдается расщепление по маркерным признакам [8, 9, 10]. Это свидетельствует о том, что зародышевые клетки, прошли мейотическое деление. Действительно, гаметы с нередуцированным числом хромосом возникают спонтанно у большого числа растительных объектов, и этот феномен

Материалы и методы

В опыте 2011 г. испытывали 8 апозиготических потомств гибрида F_1 Лентурон после двукратной однопородительской (апозиготической) репродукции (поколение A_2). Методика такого размножения заключается в выращивании в беспыльцевом режиме пыльцестерильных растений. Для исключения попадания пыльцы в размножения проводятся следующие мероприятия: 1) на изолированном участке выращиваются только ms -растения ($ms-0$ и $ms-1$)¹; 2) все полупфертильные растения ($ms2$)¹ удаляются до распускания первого цветка; 3) идентификацию

¹ фенотипы стерильных растений определяли по классификации Оуэна [14]

связан с эпигеномной изменчивостью клеток [11–12]. Следует также отметить, что довольно заметную часть таких потомств составляют гаплоидные проростки – до 3–8 % [13].

Опираясь на представления о генетической природе гетерозиса [1] и на разработанный нами в начале 1990-х гг. апозиготический способ репродукции семян [8], было сформулировано предложение, что высокую продуктивность у гибридов свеклы можно сохранить, используя беспыльцевой способ репродукции семян. Апозиготия, как и самооплодотворение, поддерживает в ряду смежных поколений репродукции в гомозиготном состоянии эпистатические комплексы генов [9], что позволяет сохранять гибридную мощность у растений, а также эффективно использовать богатейший мировой генофонд сахарной свеклы, расширяя генетическое разнообразие селекционных материалов.

По нашему мнению, использование «нового» способа репродукции семян не может не оказывать влияния на методы отбора и в целом на эффективность селекционной работы с сахарной свёклой. Это позволит: а) эффективнее использовать богатейший мировой генофонд сахарной свеклы, расширяя генетическое разнообразие селекционных материалов; б) существенно удешевит селекционные схемы создания новых сортов; в) упростит семеноводческий процесс.

Цель настоящего исследования – сравнить продуктивность апозиготических потомств коммерческого гибрида сахарной свеклы Лентурон (поколение A_2) с исходным гибридом, а также оценить уровень продуктивности потомств гаплоидного растения, выделенного в поколении A_1 .

растений по фенотипу пыльцы проводится ежедневно в течение всего срока цветения, так как некоторые растения характеризуются мозаичным фенотипом. Такие растения также удаляются с участка размножения. Таким способом получают поколение A_1 . В следующем году в таком же режиме репродуцируются семена растений A_1 с целью получения потомства A_2 . В беспыльцевом режиме репродукции становится возможной развитие эмбрионов без оплодотворения (апозиготия).

Потомства, получаемые при беспыльцевом (апозиготическом) режиме семенной репродукции, являются дигаллоидами.

В 2012 г. в исследование было взято 11 по-

томств A_2 , которые были получены от одного гаплоидного растения (поколение A_1). Отбор гаплоидов проводили по морфологическим признакам. В дальнейшем осуществлялся цитологический контроль: подсчет числа хромосом и оценка миксоплоидности клеточных популяций с помощью косвенного метода определения плоидности – число хлоропластов в замыкающих клетках устьиц [15]. В процессе развития растений у свеклы наблюдается геномная неста-

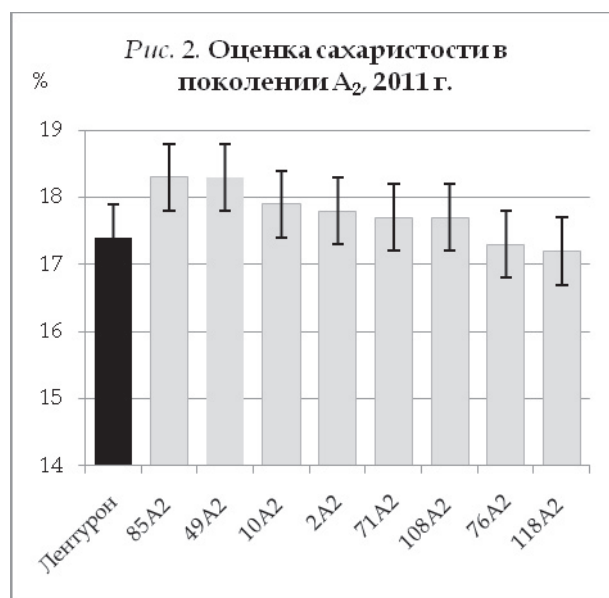
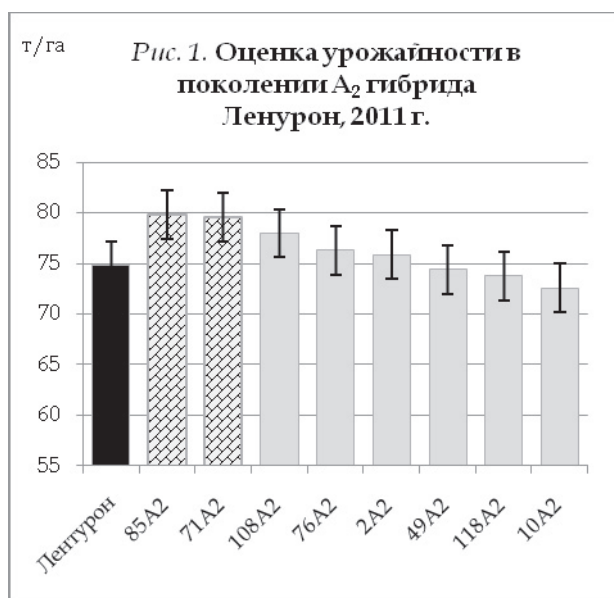
Результаты

В 2011 г. испытывали дигаплоидные образцы (поколение A_2). По показателям продуктивности испытываемые образцы были либо равны исходному гибриду, либо достоверно его превосходили (рис. 1-3). По урожаю корнеплодов два образца ($85A_2$ и $71A_2$) достоверно превысили «контроль», остальные не отличались от исход-

бильность, что приводит к миксоплоидности клеточных популяций. За счёт этого может происходить естественная диплоидизация гаплоидов и образование удвоенных гаплоидов.

Продуктивность определяли по следующим показателям: урожайность (т/га), содержание сахара в корне (%), сбор сахара с единицы площади. Содержание сахара в корне (%) оценивали методом холодной дигестии [16]

ного гибрида (рис. 1). По содержанию сахара в корнях все экспериментальные образцы статистически не отличались от «контроля» (рис. 2). По сбору сахара с единицы площади образец $85A_2$ превысил контроль, а остальные были равны «контролю» (рис. 3).



Это свидетельствует о том, что в апозиготических потомствах не наблюдалось снижения продуктивности ни по урожаю корней, ни по содержанию сахара в корнях по сравнению с исходным родительским гибридом. Следует учесть также, что этот год по погодным условиям был чрезвычайно благоприятен, что отразилось на всех показателях связанных с урожайностью с/х культур. Ранее мы проводили выборочные полевые испытания хозяйственной продуктивности семенного поколения A_2 , которые также показали высокий уровень продуктивности, сравнимый с уровнем продуктивности международных стандартов [17].

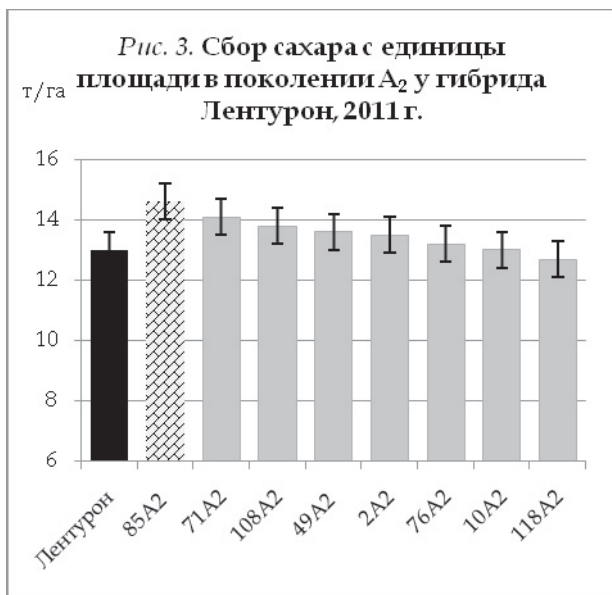
В 2012 г. в испытания были включены также, как и в предыдущем году, растения из

поколения A_2 , но это были потомства одного гаплоидного растения, которое было выделено в поколении A_1 . Цитологические данные свидетельствуют о нестабильности клеточных популяций этих растений: а) в точках роста наблюдали гаплоидные, диплоидные и полиплоидные клетки; б) по числу хлоропластов в замыкающих клетках устьиц эти растения можно отнести к диплоидным растениям (10-13 шт. на клетку), но среднее значение ниже, чем у контрольных растений (14-15 шт. на клетку), кроме того имеет место высокий размах изменчивости клеточной популяции ($\sigma^2 > 2,5$).

В 2012 г. погодные условия были не столь благоприятны как в предыдущем. Кроме того, изучаемый материал показал большую вари-

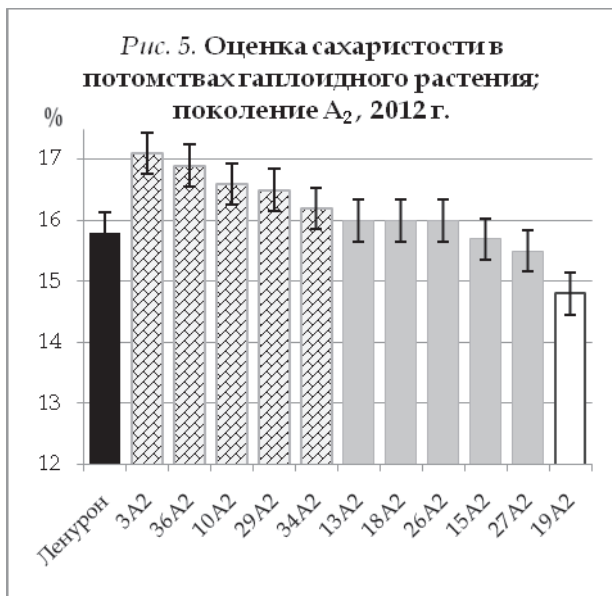
бельность по цитологическим признакам. Среди испытанного материала были образцы, как превышающие показатели исходного гибрида, так и уступающие контролю (рис. 4–6). По урожайности корнеплодов восемь образцов (26A₂, 27A₂,

3A₂, 18A₂, 10A₂, 29A₂, 36A₂, 34A₂) оказались достоверно выше «контроля», 15A₂ – не отличался, а 13A₂ и 19A₂ – были достоверно ниже «контроля» (рис. 4).



По сахаристости пять образцов превысили результаты исходного гибрида (3A₂, 36A₂, 10A₂, 29A₂, 34A₂), еще пять (13A₂, 18A₂, 26A₂, 15A₂, 27A₂) – были равны, а один образец показал результат, который был статистически достоверно ниже «контроля» (рис. 5). По сбору сахара с

единицы площади восемь исследуемых образцов (3A₂, 26A₂, 10A₂, 18A₂, 29A₂, 27A₂, 36A₂, 34A₂) оказались достоверно лучше исходного гибрида, образец 15A₂ статистически не отличался от него, а два образца 13A₂ и 19A₂ показали результат ниже «контроля» (рис. 6).



Как показывают материалы сравнительного сортоиспытания, уровень хозяйственной продуктивности апозиготических потомств равен или превышает уровень продуктивности ком-

мерческих гибридов (поколение F₁). Эти гибриды, как и любые другие коммерческие сорта, создавались в ходе длительной селекции и включали в себя как процедуры родственных

скрещиваний, так и отбор линий по комбинационной способности. Природу высокой продуктивности апозиготических потомств можно связать, с одной стороны, с гомозиготностью комплекса генов, определяющих продуктивность [2], а с другой, со структурой листового полога, формируемого свекловичным посевом.

Тот факт, что некоторые потомства превосходят родительский гибрид, как по урожаю

корней, так и по сбору сахара свидетельствует о том, что в потомствах апозиготических растений можно проводить отбор по признакам продуктивности и использовать их в селекционном процессе. Как показывают наши наблюдения, высокий уровень хозяйственной продуктивности присущ как дигаплоидным семенным потомствам, так потомствам, полученных на основе удвоенного гаплоида.

Выводы

Потомства однородительской репродукции гетерозисного гибрида (дигаплоиды) не показывают снижения уровня продуктивности, некоторые из них даже превосходят родительский гибрид. Это даёт возможность проведения отбора по признакам продуктивности в таких потомствах и их использования в селекционной работе. Высокий уровень хозяйственной продуктив-

ности характерен также и потомствам, полученным на основе удвоенного гаплоида. Использование однородительской (апозиготической) репродукции позволяет эффективнее использовать богатейший мировой генофонд сахарной свеклы, расширяя генетическое разнообразие селекционных материалов.

Работа выполнена при поддержке интеграционного гранта Президиумов СО РАН и НАН Беларуси №3, а также грантов РФФИ № 12-04-90000-Бел-а и 13-04-00012-а и 13-04-90403-укр_ф_а.

Литература

1. Sprague G.F. Heterosis. Reappraisal of theory and practice. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1983 (ed. R. Frankel). – 290 p.
2. Allard R.W. History of plant population genetics // Ann. Rev. Genetics. – 1999. – Vol. 33. – P. 1–27.
3. Crow J.F. Heterosis, Iowa State College Press, Chapter 18. – 1952.
4. Малецкий С.И. Популяционно-генетические аспекты продуктивности растений. Новосибирск: «Наука», 1982. – 164 с.
5. Harper J.L. Population Biology of Plants. London: Academic Press. – 1977. – 892 p.
6. Лутков А.Н., Таранюк М.И., Малецкий С.И. Полиплоидия в селекции сахарной свёклы. – М.: изд-во «Наука», 1970. – 306 с.
7. Вепрев С.Г., Кудрявцева О.А., Малецкий С.И. Популяционно-генетические аспекты продуктивности растений. – Новосибирск: «Наука», 1982.
8. Малецкий С.И., Малецкая Е.И. Самофертильность и агамоспермия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Генетика. – 1996. – Т. 32, № 12. – С. 1643–1650.
9. Малецкий С.И. Сцепленное и несцепленное наследование в партеногенетических потомствах растений // Генетика. – 1997. – Т. 33, № 10. – С. 1333–1340.
10. Левитес Е.В., Овечкина О.Н., Малецкий С.И. Авто- и эписегрегация по признакам окраски в агамоспермных потомствах сахарной свеклы // Генетика. – 1999. – Т. 35, № 8. – С. 1086–1092.
11. Frenkel R. Uber das Auftreten von unreduzieren Gameten bei Angiospermen // Arch. Zucht. Forsch. – 1975. – Vol. 5. – P.201–208.
12. Harlan J.R., de Wet J.M.J. The origins of polyploidy // Bot. Rev. – 1975. – Vol. 41. – P. 361–390.
13. Малецкая Е.И., Малецкий С.И. Апозиготический способ репродукции семян и гаплоидия у сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) // Сборник научных трудов: «Факторы экспериментальной эволюции организмов». – Київ: «ЛОГОС», 2006. – Т. 3. – С. 274–279.
14. Owen F.V. Cytoplasmically inherited male sterility in sugar beets // Journ. Agric. Res. – 1945. – Vol. 71, №10. – P.423–440.
15. Savitsky H. Effectiveness of selection for tetraploids plants in C₀ generation on the basis of the number of chloroplasts in stomata // Amer. Soc. Sugar Beet Technol. – 1966. – Vol. 13, № 8. – P. 655–661.
16. Силян П.М. Лабораторная оценка технологических качеств сахарной свеклы. – М.: Пищепромиздат, 1958. – 91с.
17. Юданова С.С., Мелентьева С.А., Татур И.С. Факторы экспериментальной эволюции организмов. – Київ: «Логос», 2011. – Т. 10.

YUDANOVA S.S.¹, MELENTEVA S.A.², MALETSKAYA E.I.¹, TATUR I.S.², MALETSKII S.I.¹

¹ *Institut of cytology and genetics SB Rusiun academy of science*

Russia, 630090, Novosibirsk, av. Lavrenteva, 10, e-mail:sonia@bionet.nsc.ru

² *Experimental plant breeding station of sugar beet, National academy of science of Belarus*

Belarus, 222603, Nesvizh, Minsk region, Ozernaya str., 1

CROP PRODUCTIVITY OF DIHAPLOID AND DOUBLE HAPLOID IN SUGAR BEET (*BETA VULGARIS* L.)

A *goal* of the presented paper was the crop productivity estimation of dihaploid and double haploid plants after apozygotic (uniparental) reproduction of heterosis hybrid. **Methods.** 8 dihaploid apozygotic progenies of heterosis hybrid *Lenturon* and 11 double haploid progenies were investigated. In the investigated material were evaluated (i) crop productivity (t/ha), (ii) sugar content in root (%), (iii) sugar yield. **Results.** Dihaploid progenies don't register a reduction of crop productivity. Some of progenies even exceed a result of the initial hybrid. Double haploids register also a high level of crop productivity, but this material show greater variability. **Conclusions.** This result shows a possibility using of apozygotic progenies for breeding purposes. A use of uniparental (apozygotic) reproduction makes it possible to enlarge the genetic diversity of breeding materials.

Key words: crop productivity, sugar beet, genetic diversity of breeding materials, dihaploid and doubled haploid plants.

АГДЖОЯН А.Т.¹, УТЕВСКАЯ О.М.⁵, СХАЛЯХО Р.А.², ДИБИРОВА Х.Д.^{2,1},
ПОЧЕШХОВА Э.А.^{3,2}, ЮСУПОВ Ю.М.⁴, МАНСУРОВ Р.И.², НАУМОВА Е. А.⁶,
АТРАМЕНТОВА Л.А.⁵, БАЛАНОВСКАЯ Е.В.², БАЛАНОВСКИЙ О.П.^{1,2}

¹ ФГБУН Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН

Россия, 119991, г. Москва, ул. Губкина, д. 3, e-mail: aagdzhojan@gmail.com

² ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН

Россия, Москва

³ ГБОУ ВПО «Кубанский государственный медицинский университет»

Россия, Краснодар

⁴ ГБНУ «Институт гуманитарных исследований Республики Башкортостан»

Россия, Уфа

⁵ Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

Украина, Харьков

⁶ ФГОУ ВПО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Россия, Москва

СЛЕДЫ ДРЕВНИХ МИГРАЦИЙ В ГЕНОФОНДЕ КРЫМСКИХ И КАЗАНСКИХ ТАТАР: АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА Y-ХРОМОСОМЫ

В настоящее время всё большее внимание популяционных генетиков привлекает изучение генофонда человека не только «в настоящем», но и «в прошлом»: благодаря системам однородительских маркеров стало возможным выявлять древние миграции населения, отслеживать общие генетические компоненты разных народов и комплексно оценивать взаимоотношения генофондов друг с другом. Всё это позволяет исследовать возможные пути формирования генофонда человека в масштабе локальных популяций, народов и крупных супер-этнических объединений. Уникальным инструментом для изучения генетической истории народов являются маркеры нерекombинирующей части

Y-хромосомы (NRY - nonrecombining region of the Y), передающиеся только по мужской линии. NRY наследуется единым гаплотипом. Новые гаплотипы появляются в результате мутационного процесса. Благодаря этому возможно реконструировать «генеалогическое древо» Y-хромосомы и проследить историю появления новых гаплотипов, установить место и время их возникновения. Располагая информацией ещё и о пространственном распространении гаплогрупп, можно отслеживать миграции и другие события истории народов. Данное исследование представляет результаты изучения генофондов крымских и казанских татар с помощью маркеров Y-хромосомы.

Материалы и методы

Образцы венозной крови крымских (104) и казанских (141) татар были собраны в ходе экспедиционного обследования. ДНК выделена фенол-хлороформным методом, концентрация ДНК определялась спектрофотометрически и/или в ходе ПЦР в реальном времени с помощью набора Quantifiler Human DNA Kit (Applied Biosystems). Генотипирование Y-хромосомы проведено с использованием 40 SNP маркеров методом ПЦР в реальном времени.

Сравнительный анализ генофондов изученных популяций с другими народами Евразии проведён при помощи информации из базы данных «Y-base: изменчивость Y-хромосомы у народов мира» (основные составители: О.П. Бала-

новский, А.С. Пшеничнов, Р.С. Сычев), созданной в лаборатории популяционной генетики человека ФГБУ «МГНЦ» РАМН. Генетические расстояния М. Нея [Nei, 1975] между генофондами популяций татар и других народов рассчитаны по частотам гаплогрупп (выполнено в программе DJ genetic (Balanovsky et al., 2008)). Матрицы расстояний были визуализированы методами многомерного шкалирования и кластерного анализа в программе Statistica 10.0 (StatSoft, Inc, 2012). Карты распространения отдельных гаплогрупп Y-хромосомы построены с помощью программы GeneGeo, разрабатываемой под руководством О.П. Балановского.

Результаты и обсуждение

Итоги генотипирования образцов ДНК крымских (N=104) и казанских (N=141) татар по панели SNP-маркёров (single nucleotide polymorphism) Y-хромосомы позволили составить «генетические портреты» данных популяций. Сведения о частотах отдельных гаплогрупп в популяциях крымских и казанских татар были добавлены к ранее созданным базам данных, и на основе всего массива информации были построены карты частот гаплогрупп R1a1a-M198, C-M130, E1b1b1-M35.1, J2-M172, G2a3b1-P303, I1-M253 для восточноевропейского региона (рис. 2).

Генофонд крымских татар, который послужил основным объектом данного исследования, отличается широким спектром и отсутствием «мажорной» (доминирующей) гаплогруппы: с частотой от 5 % до 24 % встречаются R1a1a-M198, R1b-M343, J2-M172, G2a3b1-P303, E1b1b1-M35.1; на их долю суммарно приходит-

ся 67 % генетического разнообразия крымских татар (рис. 1). Около трети генофонда представлено более редкими (с частотой от 1 % до 5 %) гаплогруппами: C-M130, Q-M242, L-M11, O3-M122, I1-M253, N1-LL22g, G2a3a-M406, I2a1-P37.2, J1-M267, T1-M70. Высокая гетерогенность генофонда может быть связана с подразделенностью крымских татар на антропологически резко различающиеся субэтнические группы [6], и требует увеличения выборки и изучения генофонда каждого субэтнуса в отдельности.

У казанских татар «генетическая картина» иная: 82 % генофонда составили пять наиболее частых (>5 %) гаплогрупп: R1a1a-M198, R1b-M343, N1-LL22g, I1-M253, I2a1-P37.2 (рис. 1). Редкими (с частотой от 1 % до 5 %) для казанских татар являются гаплогруппы O3-M122, J1-M267, J2-M172, E1b1b1-M35.1, T1-M70, I-M170*.

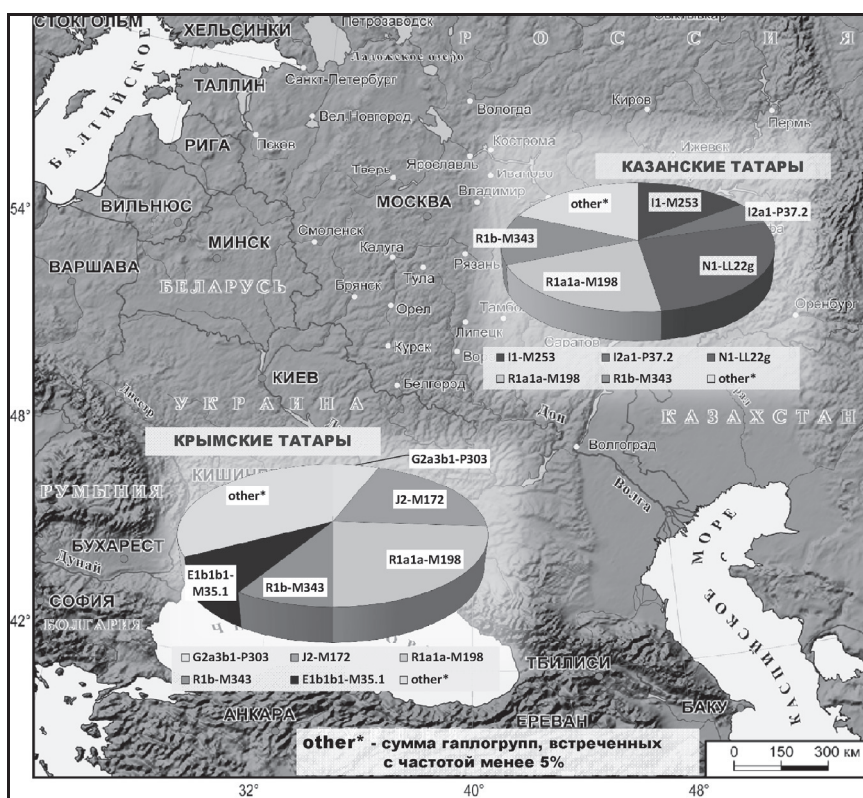


Рис. 1. Спектры гаплогрупп Y-хромосомы в исследованных популяциях татар

Таким образом, в генофонде и крымских, и казанских татар с большими частотами обнаружены филогенетически родственные гаплогруппы R1a1a и R1b. Гаплогруппа R1a1a-M198 (рис. 2, а) широко распространена среди населения Восточной Европы [4], а вот гаплогруппа R1b-M343 отражает западноевропейское влия-

ние. [1]. Однако далее по спектру частых гаплогрупп у крымских и казанских татар заметны существенные различия. Так, «ближневосточные» и «средиземноморские» гаплогруппы E1b1b1-M35.1, J2-M172 и G2a3b1-P303 [3, 2] найдены в генофонде крымских татар с более высокой частотой, чем у казанских татар

(рис. 2, а, б). Возможно, это отражает связь крымскотатарского генофонда со средиземноморскими народами, основавшими свои колонии в Крыму на заре нашей эры. Однако, кроме того, в генофонде крымских татар в небольших долях заметно присутствие ряда гаплогрупп (С-M130, Q-M242, L-M11, O3-M122), характерных для тюркского и монголоидного населения степей Евразии [5] (рис. 2, е). В генофонде казанских татар данные гаплогруппы либо крайне редки, либо вообще не встречаются. Обнаруженные у казанских татар с высокой частотой гаплогруппы N1-LL22g и I1-M253 (рис. 2, д), возможно, свидетельствуют о «финно-угорском» субстрате в их генофонде; у крымских татар эти гаплогруппы редки.

В генетическом пространстве среди лингвистически «родственных» тюркских народов Евразии крымские татары образуют кластер с балкарцами (генетическое расстояние $d=0,13$) и карачаевцами ($d=0,31$) – тюрками высокогорий Кавказа, а вот казанские татары – с караногайцами Дагестана ($d=0,16$) (рис. 3). Генофонд крымских татар относительно далёк от казанских ($d=0,42$), но при этом «казанский» и «крымский» кластеры генетически схожи с киргизами, алтайцами и ногайцами (среднее расстояние $\bar{d}=0,38$). Отметим, что из этого кластера именно алтайцы наиболее близки к обеим группам татар ($\bar{d}=0,30$), а максимально отдалены от них ($\bar{d}=0,77$) тюрки Восточного Кавказа – азербайджанцы и кумыки.

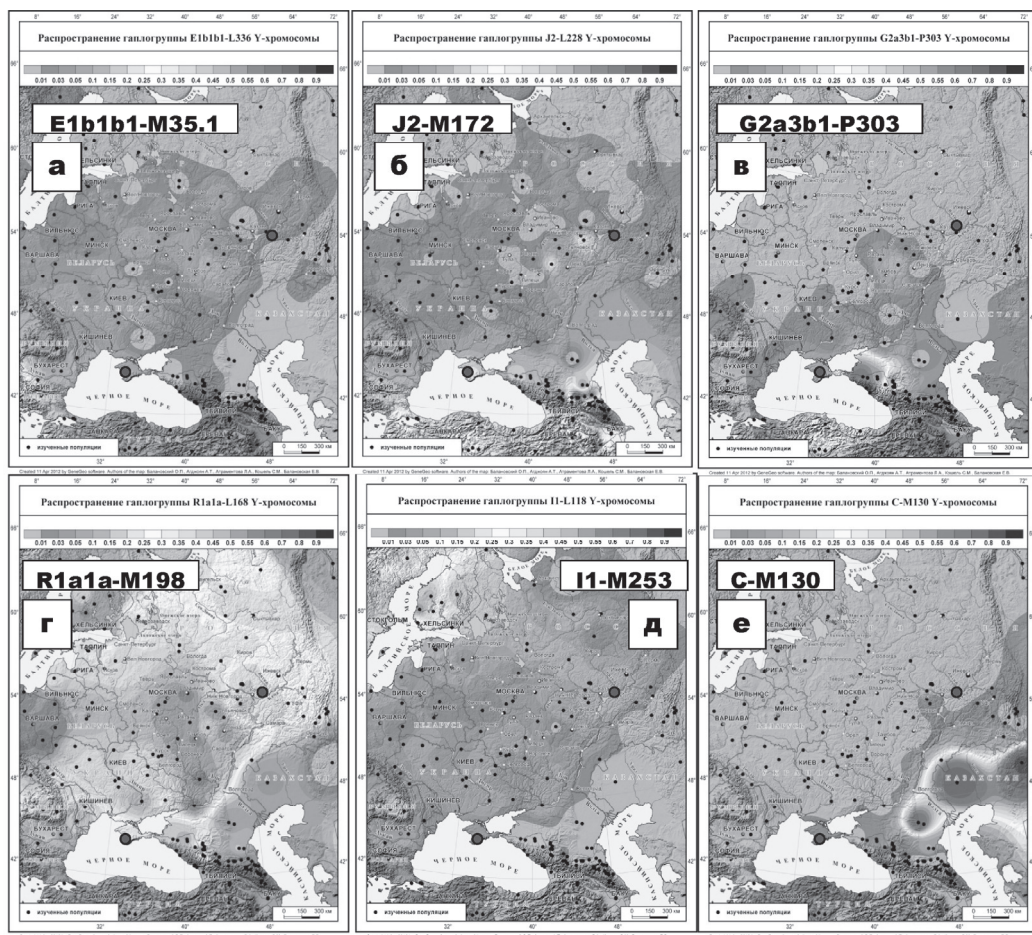


Рис. 2. Карты распространения гаплогрупп Y-хромосомы, встреченных в генофонде крымских и казанских татар (в масштабе Восточной Европы)

Примечания: а – E1b1b1-M35.1, б – J2-M172, в – G2a3b1-P303, г – R1a1a-M198, д – I1-M253, е – C-M130. Красными точками на картах отмечены популяции крымских и казанских татар, черными – другие популяции из базы данных Y-base. Цветами на картах показаны частоты гаплогрупп: от минимальных (серый цвет – отсутствие гаплогруппы, темно-зелёный цвет – низкие частоты) до максимальных (темно-красный и фиолетовый цвета). Карты построены с помощью программы GeneGeo и на основе информации базы данных Y-base (созданы коллективом лаборатории популяционной генетики человека ФГБУ «МГНЦ» РАМН, www.genefond.ru).

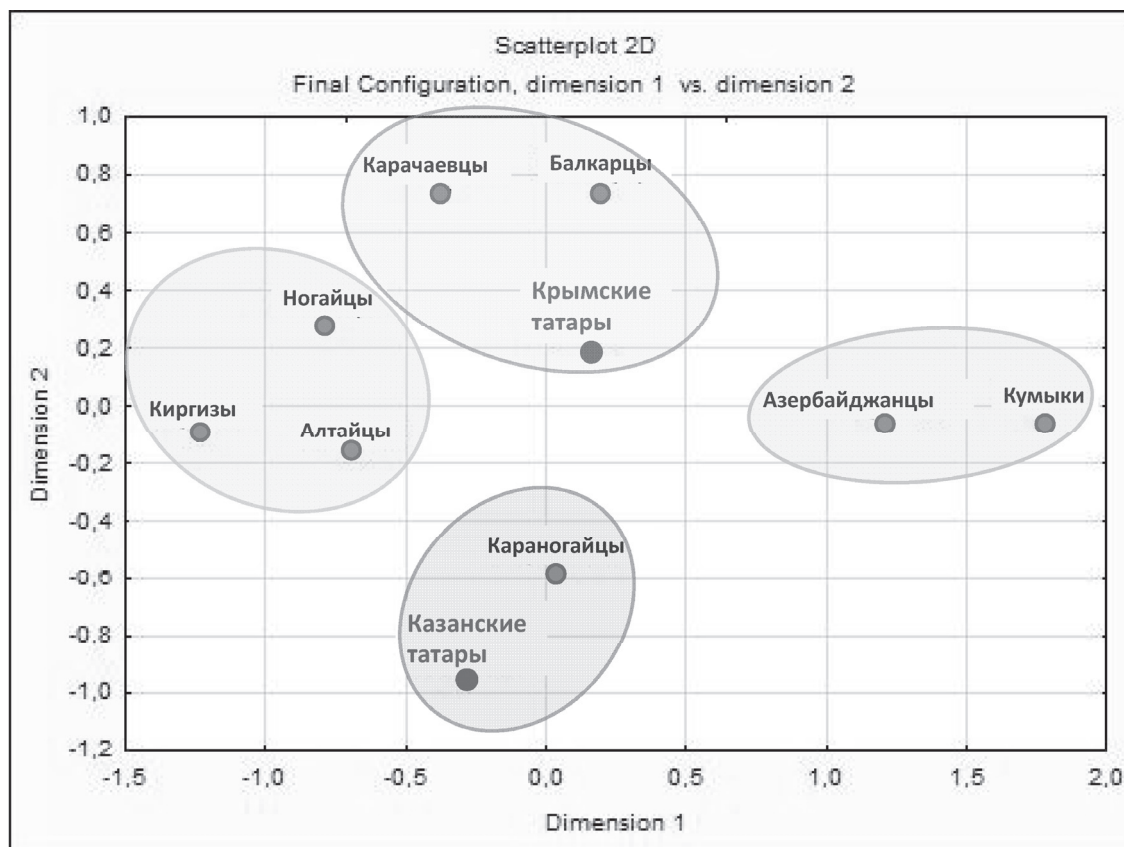


Рис. 3. Положение популяций татар в генетическом пространстве тюрков Евразии

Примечания: показан график многомерного шкалирования, отражающий расположение популяций в зависимости от генетических расстояний между ними. На рисунке выделены цветом популяции татар и кластеры групп со сходным генофондом. График построен в программе Statistica 10.0 (на основе матрицы генетических расстояний по Нею [Nei, 1975], величина стресса=0,0390552, аллиенации = 0,0601323.

Выводы

Обнаружена высокая гетерогенность генофонда крымских татар и отсутствие доминирующего варианта (гаплогруппы) Y-хромосомы: пять наиболее частых (R1a1a-M198, R1b-M343, J2-M172, G2a3b1-P303, E1b1b1-M35.1) суммарно охватывают лишь 67 % генетического разнообразия. В то время как у казанских татар наиболее частые гаплогруппы (R1a1a-M198, R1b-M343, N1-LL22g, I1-M253, I2a1-P37.2.) составляют 82 % генофонда. При сравнении с генофондом казанских татар по спектру и суммарной доле частых гаплогрупп выявлены как общие компоненты (R1a1a-M198, R1b-M343), так и различия. Для крымских татар характерно за-

метное присутствие в генофонде как «близнево-сточных» и «средиземноморских», так и, хотя в меньшей степени, «азиатских» гаплогрупп. Для казанских татар частыми гаплогруппами являются N1-LL22g и I1-M253, характерные для «финно-угорских» народов.

В генетическом пространстве среди лингвистически родственных тюркских народов Евразии генофонды крымских и казанских татар располагаются на разных «полюсах»: крымские татары группируются с тюрками высокогорий Кавказа (балкарцами и карачаевцами), казанские татары образуют кластер с караногайцами Дагестана.

Исследования поддержаны Программами Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», «Динамика генофондов», «Фундаментальные науки – медицине» и грантами РФФИ 11-06-00333-а, 13-06-00670_а, 12-04-31732-мол_а, 12-06-12002-офи_м.. Авторы выражают искреннюю благодарность главному врачу КРУ «Медицинский центр по обслуживанию депортированных народов» (г. Симферополь, АР Крым, Украина) Лилии Амзаевне Мустафеевой и сотрудникам центра за помощь и всестороннее содействие в проведении экспедиционного исследования.

Литература

1. Myres NM, Rootsi S, Lin AA at al. (18 co-authors). A major Y-chromosome haplogroup R1b Holocene era founder effect in Central and Western Europe // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2011. – Vol. 19, № 1. – P. 95–101.
2. Rootsi S, Myres NM, Lin A.A. (33 co-authors) Distinguishing the co-ancestries of haplogroup G Y-chromosomes in the populations of Europe and the Caucasus // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2012. – Vol. 20, № 12. – P. 1275–1282.
3. Semino O, Magri C, Benuzzi G. at al. (16 co-authors) Origin, diffusion, and differentiation of Y-chromosome haplogroups E and J: inferences on the neolithization of Europe and later migratory events in the Mediterranean area // *Am. J. Hum. Genet.* – 2004. – 74 (5). – P. 1023–1034.
4. Underhill P.A., Myres N.M., Rootsi S. (34 co-authors). Separating the post-Glacial coancestry of European and Asian Y chromosomes within haplogroup R1a // *Eur. J. Hum. Genet.* – 2010. – 18 (4). P. 479–484.
5. Балаганская О.А. Полиморфизм Y хромосомы у тюркоязычного населения Алтая, Саян, Тянь-Шаня и Памира в контексте взаимодействия генофондов Западной и Восточной Евразии: Автореф. дис. канд. биол. наук. – М., 2011. – 26 с.
6. Тюркские народы Крыма: Караимы. Крымские татары. Крымчаки / Отв. ред. С.Я. Козлов, Л.В. Чижова. – М.: Наука, 2003. – 459 с.

AGDZHOYAN A.T.¹, **UTEVSKA O.M.**⁵, **SKHALYAKHO R.A.**², **DIBIROVA KH.D.**^{2,1},
POCHESHKHOVA E.A.^{3,2}, **YUSUPOV Y.M.**⁴, **MANSUROV R.I.**², **NAUMOVA E.A.**⁶,
ATRAMENTOVA L.A.⁵, **BALANOVSKA E.V.**², **BALANOVSKY O.P.**^{1,2}

¹ *Vavilov Institute for General Genetics, Russian Academy of Sciences*

Russia, 119991, Moscow, GSP-1, Gubkin 3, e-mail: aagdzhoyan@gmail.com

² *Research Centre of Medical Genetics of the Russian Academy of Medical Science*

Russia, Moscow

³ *Kuban State Medical University, Krasnodar, Russia*

⁴ *Institute for Humanities Research of the Republic of Bashkortostan, Ufa, Russia*

⁵ *V.N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine*

⁶ *Lomonosov Moscow State University Moscow, Russia*

TRACES OF ANCIENT MIGRATIONS IN THE CRIMEAN AND KAZAN TATARS GENEPOOLS: THE ANALYSIS OF Y-CHROMOSOME POLYMORPHISM

Aims. The comparative analysis of gene pools of the Crimean and Kazan Tatars by the Y chromosome markers. **Methods.** The molecular, statistical and cartographical methods were used. **Results.** A high heterogeneity and lack of a dominant haplogroup were found for the gene pool of Crimean Tatars. **Conclusions.** The Crimean Tatars gene pool includes the «Middle Eastern», «Mediterranean» and, to a lesser extent, «Asian» haplogroups, and for Kazan Tatars the «Finno-Ugric» haplogroups are typical. The gene pools of the Crimean and Kazan Tatars are placed on the different «poles» of the genetic space of Eurasian Turkic peoples.

Key words: Y-chromosome haplogroup, population, gene pool, Crimean and Kazan Tatars.

АТРАМЕНТОВА Л.А.¹, **ГОРШУНСКАЯ М.Ю.**², **КАРАЧЕНЦЕВ Ю.И.**¹, **КРАВЧУН Н.А.**¹,
ТЫЖНЕНКО Т.В.¹, **ПОЧЕРНЯЕВ А.К.**¹, **ОПАЛЕЙКО Ю.А.**¹, **ПОЛТОРАК В.В.**¹

¹ *ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН*

Украины»

Украина, 61002, Харьков, ул. Артёма, 10

² *Харьковская медицинская академия последипломного образования*

Украина, 61176, Харьков, ул. Корчагинцев, 58, e-mail: atramentova@yandex.ru

ЗНАЧЕНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА +276G/T ГЕНА АДИПОНЕКТИНА (ADIPOQ) В ФОРМИРОВАНИИ РИСКА САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

Полиморфизм гена адипонектина (ADIPOQ) исследуется в связи с сахарным диабетом 2 типа и сердечно-сосудистыми проблемами [1]. Этот ген, включающий три экзона и два

интрона, находится в локусе 3q27 и экспрессируется в жировой ткани [2, 3]. Его продукт, адипонектин – гормон белковой природы, состоящий из 247 аминокислот [4], обладает противо-

воспалительным и антисклеротическим действием, повышает чувствительность к инсулину, регулирует β -окисление жирных кислот, поддерживает уровень глюкозы в скелетных мышцах и печени [5]. В настоящее время объектом внимания исследователей являются более десятка полиморфизмов этого гена, среди них часто изучаемая замена во втором интроне (+276G/T). Исследования, направленные на поиск связи между различными полиморфизмами гена ADI-

POQ и сахарным диабетом 2 типа в разных этнических группах, привели к неоднозначным выводам [6–14], что указывает на необходимость с осторожностью переносить результаты, полученные на одной этнической группе, на другие популяции. Цель данной работы: выяснить ассоциацию полиморфизма +276G/T гена ADIPOQ с сахарным диабетом 2 типа у славянского населения города Харькова – украинцев и русских.

Материалы и методы

Исследованы 544 больных сахарным диабетом 2 типа, находившихся на лечении в клинике ГУ «Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского АМН Украины». Контрольную группу составили 140 человек, не состоящих в родстве, без признаков ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии и сахарного диабета. Забор образцов крови здоровых людей произведён на базе Харьковской областной станции переливания крови с письменного согласия доноров. ДНК выделена из лейкоцитов при помощи ионообменной смолы Chelex-100 [15]. Однонуклеотидную замену +276G/T (rs1501299), определяли с помощью полимеразной цепной реакции на программируемом термоциклере фирмы «Biometra» (Германия) с последующей рестрикцией продуктов амплификации. Для амплификации фрагмента гена ADIPOQ, содержащего полиморфный сайт +276G/T, использованы прямой (ADIPOQ276F

ggcctctttcatcacagacc) и обратный (ADIPOQ276R agatgcagcaagcscsaaagt) праймеры. В качестве маркера молекулярной массы была использована ДНК pUC19, гидролизованная эндонуклеазой MspI. Разделение фрагментов ДНК после рестрикции эндонуклеазой BsmI (MvaI269I) проводили с помощью электрофореза в 2 % агарозном геле [16]. Наличие сайта рестрикции на электрофореграмме проявляется в виде двух фрагментов ДНК длиной 148 и 48 п.о., что соответствует гомозиготному генотипу GG. При отсутствии сайта рестрикции на электрофореграмме выявляется фрагмент длиной 196 п.н., что соответствует генотипу TT. Гетерозиготному генотипу GT соответствуют три фрагмента ДНК длиной 196, 148 и 48 п.о. (рис.)

Статистически значимые различия по частоте аллелей и генотипов у представителей разного пола и национальности выявлены не были, поэтому анализ проводили без учёта

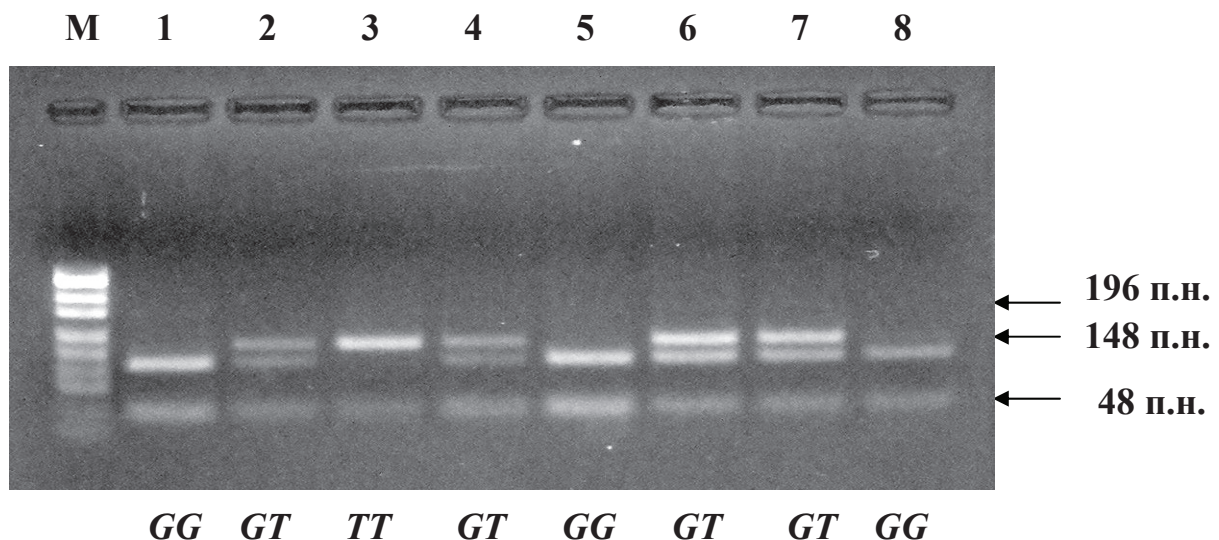


Рис. Электрофореграмма продуктов ПЦР последовательности ДНК, генотипированной по однонуклеотидному полиморфизму +276G/T гена ADIPOQ (M – маркер молекулярной массы ДНК pUC19, гидролизованной эндонуклеазой MspI.; 1-8 – ДНК больных сахарным диабетом 2 типа с различными генотипами)

половой и этнической принадлежности обследованных. Рассчитаны частоты аллелей, отношение шансов OR (Odds Ratio) с 95 %-ным доверительным интервалом, тетрахорический показатель связи γ , чувствительность, специфичность, прогностическая значимость теста на наличие наследственной предрасположенности. Провер-

ку статистических гипотез о равенстве частот аллелей в основной и контрольной группах, равенстве фактических и теоретических распределений генотипов проводили, используя критерия χ^2 с поправкой Йейтса, на уровне значимости $p \leq 0,05$ [17].

Результаты и обсуждение

Результаты генотипирования, представленные в таблице, свидетельствуют о некоторых различиях в частотах генотипов и аллелей между группой больных сахарным диабетом 2 типа и контрольной.

Мажорным аллелем в исследованных группах является G. В контрольной группе его частота 0,693, у больных 0,601. Соответственно, в группе больных повышена частота минорного аллеля T (0,399 против 0,307 в контроле). Попу-

ляционная частота аллеля T, рассчитанная как средняя взвешенная с учётом того, что больные сахарным диабетом 2 типа в изученном населении составляют 3,7 % [18], равняется $p_T=0,311$ ($p_G=0,689$). Распределение генотипов в каждой группе близко к равновесию Харди-Вайнберга, при этом в группе больных повышен удельный вес гомозигот TT (16,9 против 8,6 % в контроле), соответственно понижен процент оппозитных гомозигот (37,1 против 47,1 %).

Таблица. Распределение генотипов у больных сахарным диабетом 2 типа и здоровых людей

Группа	Генотипы, <i>n</i> (%)			p_G
	GG	GT	TT	
Контрольная	66 (47,1)	62 (44,3)	12 (8,6)	0,693
Больные СД 2	202 (37,1)	250 (46,0)	92 (16,9)	0,601

Примечания: *n* – число наблюдений, p_G – частота аллеля G, СД 2 – сахарный диабет 2 типа.

Рассчитан тетрахорический показатель связи между заболеванием (сахарным диабетом 2 типа) и генотипом TT, обнаружена слабая статистически значимая связь ($\gamma=0,09$; $\chi^2=5,3$; $\chi^2(0,05)=3,8$; $p<0,05$). Ассоциация между заболеванием и наличием аллеля T в гомо- и гетерозиготном состоянии описывается статистиками $\gamma=0,07$; $\chi^2=7,5$; $\chi^2(0,01)=6,6$; $p<0,01$. Гомозиготность по минорному аллелю увеличивает вероятность развития сахарного диабета 2 типа (OR=2,00; 95 % ДИ 1,05-3,78; $p<0,05$), а гомозиготность по мажорному аллелю снижает эту вероятность (OR=0,66; 95 % ДИ 0,45-0,96; $p<0,05$). Вместе с тем, последующие расчёты привели к выводу, что тестирование генотипа TT, как предиктора наследственной предрасположенности к сахарному диабету 2 типа, нецелесообразно при массовом скрининге, так как чувствительность

теста в изученном населении составляет всего 17 %, а специфичность 91 %. Не оправдано также использование этого теста в индивидуальном прогнозировании, поскольку генотип TT указывает на наличие наследственной предрасположенности с вероятностью лишь 7,6 %, а при наличии аллеля G в гомо- или гетерозиготе вероятность формирования сахарного диабета у носителя данного аллеля составляет 3,4 %. Невысокая прогностическая значимость ДНК-полиморфизмов в отношении наследственной предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям – факт общеизвестный [19]. Тем не менее, данные полиморфизмы могут служить дополнительными тестами в комплексе с семейной историей, а также оправдавшими себя фенотипическими характеристиками.

Литература

1. Lu Qi, Tricia Li, Eric Rim et. al. The +276 polymorphism of the APM1 gene, plasma adiponectin concentration, and cardiovascular risk in diabetic men // Diabetes. – 2005. – Vol.54. – P. 1607–1610.
2. GenBank: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. GenBank is the NIH genetic sequence database, an annotated collection of all publicly available DNA sequences.
3. Yang W.S., Tsou P.L., Lee W.J. et.al. Allele-specific differential expression of a common adiponectin gene polymorphism related to obesity // J Mol Med 2003, 81:428-434.
4. Sun Y, Xun K, Wang C et. al. Adiponectin, an unlocking adipocytokine // Cardiovasc Ther. – 2009. – Vol. 27, № 1. – P. 59–75.

5. Fumeron F., Aubert R., Siddiq A., Betoulle D., Péan F., Hadjadj S., Tichet J., Wilpart E., Chesnier M.-C., Balkau B., Froguel P., Marre M. Adiponectin gene polymorphisms and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period // *Diabetes*. – 2004. – Vol. 53. – P. 1150–1157.
6. Hu F.B., Doria A., Meigs J.D. et al. Genetic variation of the adiponectin locus and risk of type 2 diabetes in women // *Diabetes*. – 2004. – Vol. 53. – P. 209–231.
7. Ohashi K., Ouchi N., Kihara S., et al. Adiponectin 1164T mutation is associated with the metabolic syndrome and coronary artery disease // *J. Am. Coll Cardiol*. – 2004. – P. 1195–2000.
8. Tso A.W.K., Sham P.C., Wat N.M.S., Xu A., Cheung B.M.Y., Rong R, Fong C.H.Y., Xu J.Y., Cheng K.K.Y., Janus E.D., Lam K.S.L. Polymorphism of the gene encoding adiponectin and outcome of Chinese subjects with impaired glucose tolerance: a 5-year follow-up study // *Diabetologia*. – 2006. – Vol. 49. – P. 1806–1815.
9. Vasseur F., Helbecque N., Dina C. et al. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians // *Hum Mol Genet*. – 2002. – Vol. 11. – P. 2607–2614.
10. Stumvoll M., Tschrirter O., Fritsche A. et al. Association of the T-G polymorphism in adiponectin (exon 2) with obesity and insulin sensitivity // *Diabetes*. – 2002. – Vol. 51. – P. 37–41.
11. Menzaghi C., Ercolo T., Paola RD et al. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome // *Diabetes*. – 2002. – Vol. 51. – P. 2306–2312.
12. Hara K., Boutin P., Mori Y. et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population // *Diabetes*. – 2002. – Vol. 51. – P. 536–540.
13. Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Sjostrom L, Bouchard C. Mutations in the adiponectin gene in lean and obese subjects from the Swedish obese subjects cohort // *Metabolism* – 2003. – Vol. 52. – P. 881–884.
14. Vozarova de Courten B., Hanson R.L., Funahashi T. et al. Common polymorphisms in the adiponectin gene ACDC are not associated with diabetes in Pima Indians // *Diabetes*. – 2005. – Vol. 54. – P. 284–289.
15. Walsh P.S., Metzger D.A., Higuchi R. Chelex 100 as a medium for extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material // *BioTechniques*. – 1991. – №10. – P. 506–513.
16. Reddy, M.N. association of adiponectin gene functional polymorphisms (+45 T/G and +276 G/T) with obese Breast Cancer / M.N. Reddy, K. Kumar, K. Jamil // *J. Mol. Biomark. Diagn*. – 2012. – Vol. 3. – P. 1–6.
17. Armitage P., Berry G. *Statistical Methods in Medical Research* // 3rd ed. Blackwell Scientific Publications. – London, 1994. – 620 p.
18. Основні показники діяльності ендокринологічної служби України за 2010 рік. Київ. – 2011. – 32 с.
19. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В.С. Баранова. – СПб.: Изд-во Н-Л, 2009. – 528 с.

ATRAMENTOVA L.A.¹, GORSHUNSKAYA M.Y.², KARACHENTSEV Y.I.¹, KRAVCHUN N.A.¹, TYZHNEKO T.V.¹, POCHERNIAEV A.K.¹, OPALEIKO J.A.¹, POLTORAK V.V.¹

¹ V. Danilevsky Institute of Endocrine pathology problems at NAMS of Ukraine

Ukraine, 61002, Kharkov, Artema str., 10

² Kharkiv Postgraduate Medical Academy

Ukraine, 61176, Kharkov, Korchagintsev str., 58, e-mail: atramentova@yandex.ru

ROLE OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM +276G/T OF ADIPONECTIN GENE (ADIPOQ) IN RISK OF TYPE 2 DIABETES MELLITUS DEVELOPMENT

Aim. To examine the association of single nucleotide polymorphism (SNP) +276G/T *ADIPOQ* gene with Type 2 diabetes mellitus in slavonic population of Kharkov – Ukrainians and Russians. **Methods.** SNP *ADIPOQ* was detected in 544 type 2 diabetic patients and 140 subjects without ischemic heart disease, arterial hypertension and diabetes. Genotyping of the SNP was performed by using the polymerase chain reaction – restriction fragments length polymorphism method. The statistical analysis was made, genotype and allele frequencies were tested by χ^2 . The Odds Ratio (OR) was calculated and a 95 % confidence interval (CI) was provide. **Results.** The genotype frequencies were consistent with Hardy-Weinberg equilibrium in both groups. Frequency of G allele is 0.69 in control group, and 0.60 in patients. The TT genotype was present in 8.6 % of control subjects, and in 16.6 % of patients ($p < 0.05$). The TT genotype was associated with increased risk for type 2 diabetes mellitus (OR=2.00; CI 1.05-3.78; $p < 0,05$). Homozygosity for major allele was associated with decreased risk of disease (OR=0.66; CI 0,45-0,96 $p < 0,05$). **Conclusion.** The TT genotype is a factor of increased risk for type 2 diabetes mellitus in the slavonic population.

Key words: SNP 276 G/T adiponectine *ADIPOQ*, type 2 diabetes mellitus.

АЦАЕВА М.М., КОЛОМИЕЦ О.Л.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН
Россия, 119991, г. Москва, ул. Губкина, 3, e-mail: olkolomiets@mail.ru*

ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ НАРУШЕНИЙ В СТРУКТУРЕ СИНАПТОНЕМНЫХ КОМПЛЕКСОВ, ВЫЗВАННЫХ КСЕНОБИОТИКАМИ В СПЕРМАТОЦИТАХ МЫШИ

На стадии профазы I мейоза происходят важнейшие события, определяющие дальнейшую прогрессию сперматогенеза вплоть до формирования зрелых, способных к оплодотворению, сперматозоидов. Формирование структурных нарушений хромосом в мейозе может иметь драматические последствия, приводить к серьезным нарушениям постмейотических процессов, тератоспермии, азооспермии и, в конечном итоге, к стерильности самцов млекопитающих или патологии потомства. Наиболее информативным методом анализа хромосомных нарушений в профазе I мейоза является анализ тотальных препаратов синаптонемных комплексов (СК). Синаптонемный комплекс (СК) является своеобразным скелетом мейотического бивалента, поэтому конфигурация осевых элементов, приобретающих роль боковых элементов в структуре СК, служит парадигмой поведения гомологов на стадии профазы I мейоза [9]. На основе метода анализа СК, предложенного Counce & Meyer (1973), удается проследить все детали формирования осевых элементов, начало их физического сближения и синапсиса на стадии зиготены, синапсис и его коррекцию у гетерозигот по хромосомным перестройкам на ста-

дии пахитены, и динамику десинапсиса хромосом на стадии диплотены. Успехи, достигнутые цитогенетикой на основе анализа СК, свидетельствуют о перспективности использования этого метода для решения актуальных проблем генетической безопасности [1, 3, 5, 6].

Целью настоящего исследования служил сравнительный анализ действия 1,1-диметил гидразина (1,1-ДМГ) – компонента ракетного топлива, и противоопухолевого цитостатика циклофосфана (ЦФ) на структуру СК самцов мыши и процесс сперматогенеза в целом.

Актуальность исследования обусловлена тем, что загрязнению 1,1-ДМГ, обладающим сильным токсическим и мутагенным действием (Глушко, 1985), подверглись значительные территории России, однако действие 1,1-ДМГ на хромосомы сперматоцитов I порядка млекопитающих до сих пор не было исследовано. Вместе с тем, ранее установлено, что 1,1-ДМГ вызывает серьезные нарушения сперматогенеза у растущих крыс [4]. Параллельно было проведено сравнительное исследование СК у самцов мыши после введения циклофосфана (ЦФ) – противоопухолевого препарата, высоко генотоксичного для незрелых половых клеток.

Материалы и методы

Исследованы СК 14 самцов мыши после воздействия МПД 1,1-ДМГ (70 мг/кг); 8 самцов после внутрибрюшинного введения ЦФ в течение десяти дней по 250 мг/кг в сутки. 8 контрольным самцам ежедневно вводили воду для инъекций. Животных забивали с помощью дислокации шейных позвонков. Семенники извлекали, семенные каналцы гомогенизировали. Приготовление препаратов распластанных ядер сперматоцитов I порядка (спредов) и их фиксацию проводили по методу Navarro (1981). Для идентификации осевых элементов хромосом и латеральных элементов СК использовали кроли-

чьи антитела к белку SCP3 – мажорному белку латеральных элементов СК; центромеры идентифицировали с помощью антител к центромерным белкам (ACA). Участки транскрипционного сайленсинга хроматина выявляли с помощью антител к гистону γ H2AX. Кроме того, анализировали под световым микроскопом и фотографировали суспензию клеток семенника и суспензию эпидидимальных сперматозоидов. Препараты анализировали с помощью универсального флуоресцентного микроскопа Axioimager D1 (Carl Zeiss, Германия).

Результаты и обсуждение

1. Нарушения в структуре сперматозоидов у животных, получавших 1,1-ДМГ и у контрольных (интактных животных). У контроль-

ных животных доля патологических сперматозоидов составляла в среднем 28,4 %; у самцов, получавших МПД 1,1-ДМГ–83,5 %. Были выяв-

лены следующие нарушения в структуре сперматозоидов: отсутствие периаксонемных структур в основном отделе жгутика; аномальное закручивание среднего отдела жгутика сперматозоида; отсутствие митохондриальной спирали в среднем отделе жгутика сперматозоида; сперматозоиды с аморфной структурой головки. Ранее Муравлева с соавт. (2007) на 30 сутки после однократного введения отъемышам крыс 1,1-ДМГ в гораздо меньшей дозе (5 мг/кг) выявили тенденцию к снижению числа подвижных и мало-подвижных сперматозоидов и увеличение на 32 % (по сравнению с контролем) количества мертвых сперматозоидов. На 90 сутки у самцов этой группы развивалась астенозооспермия, тератозооспермия и резко (в 4 раза), возросло число сперматозоидов с патологией хвоста и патологией головки (в 5 раз) по сравнению с контролем.

2. Анализ СК мейотических хромосом. Контроль. В большинстве сперматоцитов I порядка контрольных животных СК имели обычную структуру с равномерным распределением белка SCP3 по структуре СК (рис.1). Половой (XY) бивалент на стадии поздней пахитены формировал половое тельце, выселенное на периферию ядра. В ядрах контрольных животных встречались отдельные нарушения структуры СК, в частности, нарушение формирования полового тельца, но они не имели тотальный характер, количество ядер с нарушениями составляло в среднем 19,7 %.

3. Анализ СК самцов, получавших 1,1-ДМГ. Тяжелые поражения структуры СК были отмечены у всех самцов, получавших 1,1-ДМГ. У самцов №6, 14 и 18 не обнаружено ни одной клетки с нормальным СК. У этих животных наблюдалась тотальная фрагментация СК на стадиях лептотены-пахитены. Это крайне тяжелое поражение хромосом формирующихся половых клеток, которое производит впечатление необратимой мейотической катастрофы. В некоторых ядрах не удавалось идентифицировать сформированные СК. Вторым распространенный тип нарушений – формирование атипичных утолщений СК и формирование конгломератов SCP3. В таких ядрах белок γ H2AX связывался с некоторыми аутосомами и не связывался с половым бивалентом, что, как известно, приводит к аресту клеток на стадии пахитены – пахитен-

Выводы

Выявленные нарушения в структуре СК свидетельствует о высокой генотоксичности использованных в работе ксенобиотиков для кле-

ному аресту [11]. У животных, получавших 1,1-ДМГ, также обнаружено формирование кольцевых хромосом, чему должны предшествовать делеции хромосом.

Анализ СК самцов, после внутрибрюшинного введения ЦФ. У животных этой группы на 1 сутки после окончания десятидневного введения ЦФ в 100 % ядер наблюдалась фрагментация СК и распад ядер на фрагменты. На 60 сутки после введения ЦФ обнаружена резкая гипотрофия семенников. Получить потомство от таких самцов не удалось.

Как видно из изложенных результатов, нами установлено, что введение 1,1-ДМГ и ЦФ самцам мыши вызывает тяжелейшие нарушения сперматогенеза.

У четырех животных после введения 1,1-ДМГ и у всех самцов после введения ЦФ не было обнаружено ни одной клетки с полностью сформированными СК. В некоторых ядрах блок мейоза наступал еще на стадии прелептотены – не формировались даже полноценные осевые элементы хромосом. Фрагментация ядер наблюдалась и на стадии пахитены. Такие клетки дегенерировали. Иными словами, выявлены морфологические признаки, так называемой, «мейотической катастрофы», блокирующей сперматогенез на стадии мейоза. Нарушение синапсиса хромосом приводило к нарушению формирования полового тельца и пахитенному аресту [8, 11]. Судя по полученным нами результатам, нарушения касались сперматоцитов на всех стадиях профазы I мейоза и сперматогониев. Последнее может приводить к стойкому необратимому нарушению сперматогенеза и стерильности животных. Высокая токсичность 1,1-ДМГ и ЦФ может вызывать стойкое изменение метаболизма клеток семенника, что влечет за собой энергетические нарушения в клетках сперматогенного ряда, что также может приводить к апоптозу развивающихся половых клеток.

У большинства животных после введения 1,1-ДМГ сперматозоиды все-таки формировались, однако, большинство из них имели признаки дегенерации или нарушения движения, в частности, сперматозоиды без митохондрий. У трех самцов не обнаружено ни одного сперматозоида с нормальной структурой. У двух самцов было выявлено уменьшение массы и уплотнение ткани семенников.

ток сперматогенного ряда. Такие нарушения приводят к нарушению фертильности самцов и несут риск передачи хромосомных нарушений

потомству. Количественные различия в степени поражения клеток семенника у разных самцов могут быть обусловлены не только их различной устойчивостью к действию 1,1-ДМГ, но и раз-

личием в поведении животных, так как доминирующие самцы могли получать больше пищи и, соответственно, получали большую дозу 1,1-ДМГ.

Литература

1. Богданов Ю.Ф., Коломиец О.Л. Синаптонемный комплекс – индикатор динамики мейоза и изменчивости хромосом // Товарищество научных изданий КМК. – М. – 2007 – 358 с.
2. Глушко В.П. Космонавтика // Советская энциклопедия. – М. – 1985. – 398 с.
3. Коломиец О.Л., Абудуев Н.К., Мазурова Т.Ф., Брагина Е.Е., Дадашев С.Я., Курило Л.Ф., Богданов Ю.Ф. Повреждающее действие антибиотиков на структуру синаптонемных комплексов мейотических хромосом мыши // Генетика. – 2001. – Т. 37, № 2. – С. 197–206.
4. Муравлева Л.Е., Култанов Б.Ж., Медведев В.И., Танкибаева Н.У., Мустафина Ф.Х., Бритыко В.В., Дюйсеева Б.Н., Ключев Д.А. Влияние несимметричного диметилгидразина на сперматогенез растущих животных // Успехи современного естествознания. – 2007. – Т. 12. – С. 525–527.
5. Сухачева Т.В., Коломиец О.Л., Лосева Е.Ф. Анализ структуры и поведения синаптонемных комплексов после однократного введения камптотецина – ингибитора ДНК-топоизомеразы I // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – Т. 25, №1. – С. 84–88.
6. Allen J.W., Gibson J.B., Poorman P.A., Backer L.C., Moses M.J. Synaptonemal Complex Damage Induced by Clustogenic and Anti-Mitotic Chemicals: Implications for Nondisjunctions and Aneuploidy. *Mutat. Res.* – 1988. – Vol. 201. – P. 313–324.
7. Counce S.J., Meyer G.F. Differentiation of the synaptonemal complex and the kinetochore in *Locusta* spermatocytes studied by whole mount electron microscopy // *Chromosoma.* – 1973. – Vol. 44. – P. 231–253.
8. Homolka D., Ivanek R., Capkova J., Jansa P., Forejt J. Chromosomal rearrangement interferes with meiotic X chromosome inactivation // *Genome Res.* – 2007. – Vol. 17, №10. – P. 1431–1437.
9. Moses M.J. Microspreading and synaptonemal complex in cytogenetic study // *Chromosomes Today.* – 1977. – Vol 6. – P. 71–82.
10. Navarro J., Vidal R., Quitart M., Egozcue J. A method for the sequential study of synaptonemal complex by light and electron microscopy // *Hum. Genet.* – 1981. – Vol. 59, №4. – P. 419–421.
11. Turner J.M.A., Mahadevaiah S.K., Ellis P.J.I., Mitchell M.J., Burgoyne P.S. Pachytene asynapsis drives meiotic sex chromosome inactivation and leads to substantial postmeiotic repression in spermatids // *Developmental Cell.* – 2006. – Vol. 10, №4. – P. 521–529.

ATSAEVA M.M., KOLOMIETS O.L.

N.I. Vavilov Institute of General Genetics, RAS

Russia, 119991, Moscow, Gubkin str., 3, e-mail: olkolomiets@mail.ru

IMMUNOFLUORESCENT ANALYSIS OF THE STRUCTURE OF SYNAPTONEMAL COMPLEX DAMAGE INDUCED BY XENOBIOTICS IN MICE SPERMATOCYTES

Aims. The aim of this study was a comparative analysis of the effects of 1,1-dimethyl hydrazine (1,1-DMH) – a component of rocket fuel, and anti-cancer drug cyclophosphan (CP) to the structure of the synaptonemal complex (SC) of male mice and selection of the defective spermatocytes I at meiosis. **Methods.** Immunofluorescent analysis of the structure of SC damage and chromatin silencing. **Results.** Multiple damage in the structure of the SCs or even the absence of SC has been detected at the spermatocytes nuclei after the introduction of 1,1-DMH and CP to male mice. The most common damage were fragmentation of SCs, the disturbance of the chromosome synapsis and architectonics of the nuclei. Ring chromosome and SCP3 protein aggregates were also found. There were every indication of pachytene arrest at many nuclei. We revealed morphological features, the so-called meiotic catastrophe that blocked meiosis at the different stages of meiosis. **Conclusions.** 1,1-DMH and CP cause dramatic damage of meiotic chromosomes, which carries a risk of disruption of spermatogenesis, infertility and risk of chromosomal aberrations of offspring, as evidenced by the detection of abnormal sperm.

Key words: synaptonemal complex, spermatocytes, mice, 1,1-dimethyl hydrazine, immunofluorescent analysis.

БАТУРИНА О.А., ТУПИКИН А.Е., БОНДАРЬ А.А., МОРОЗОВ И.В.

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН

Россия, 630090, Новосибирск, пр-т Лаврентьева, 8, e-mail: Olga.Baturina@niboch.nsc.ru

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПЕКТРА МУТАЦИЙ ГЕНА ФЕНИЛАЛАНИНГИДРОКСИЛАЗЫ В НОВОСИБИРСКОЙ И КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТЯХ

Фенилкетонурия (ФКУ) – наследственное заболевание, в основе которого лежит аномалия аминокислотного обмена вследствие отсутствия или существенного уменьшения активности фермента фенилаланингидроксилазы, что приводит к нарушению превращения фенилаланина в тирозин [1]. Фенилкетонурия проявляется главным образом выраженной олигофренией (идиотией или имбецильностью). Лечение сводится главным образом к специальной диете (резкое ограничение продуктов, содержащих фенилаланин), с целью предотвращения накопления токсических продуктов в организме больного, приводящее к хронической интоксикации организма и поражению ЦНС с выраженным снижением интеллекта.

Материалы и методы

В группу исследования входили 104 ребенка в возрасте до пяти лет с диагнозом фенилкетонурия, выявленные в ходе неонатального скрининга в 2005–2012 гг.

Геномную ДНК выделяли из ядросодержащих клеток периферической крови пациентов обработкой протеиназой К с последующим осаждением пептидов в присутствии NaCl [5]. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили амплификацию 13 фрагментов ДНК, содержащих экзоны и участки интронов гена ФАГ. ПЦР проводили в 40 мкл, в буфере, содержащем 65 мМ Трис-НСl (рН 8,9), 16 мМ (NH₄)₂SO₄, 1,5 мМ MgCl₂, 0,01 % Tween-20, 10 мМ меркаптоэтанол, 0,1 мкМ dNTP, 0,2 мкМ олигонуклеотидных праймеров, 50-100 нг геномной ДНК, 2 ед. Таq-полимеразы (ИХБФМ, Новосибирск, Россия), в следующих условиях: начальная денатурация 3 мин при 95°C, далее в

Результаты и обсуждение

Частота встречаемости ФКУ в Западной Сибири превышает среднемировые значения (1:10000) [6] для данного заболевания и составляет 1:7000 новорожденных [7]. В исследуемой выборке было идентифицировано 32 типа мутаций гена ФАГ, ассоциированных с ФКУ (табл.).

Этнически-ассоциированные миграции сегодня оказывают значительное влияние на социально-экономическую, демографическую и эт-

Спектр мутаций гена ФАГ, ассоциированных с ФКУ, насчитывает более 500 типов мутаций [2]. Различные популяции мира имеют выраженную генетическую гетерогенность по частоте и характеру мутаций гена ФАГ [3, 4].

Целью данной работы является изучение частоты и спектра мутаций в гене ФАГ среди больных ФКУ, проживающих на территории Новосибирской и Кемеровской областей. Исследование распределения аллелей в этих популяциях представляет интерес не только для характеристики генетической структуры и истории популяций, но и позволяет выявлять гетерозиготных носителей заболевания и осуществлять эффективную перинатальную диагностику ФКУ

течение 32 циклов: денатурация – 1 мин при 94°C; отжиг праймеров – 1 мин при 58°C; элонгация – 2 мин при 72°C. Секвенирование проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, содержащей 300-500 фмоль продукта ПЦР, 10 пмоль праймера и 1 мкл реактива BigDye. Температурный профиль реакции секвенирования был следующим: 1 цикл - 96°C – 1 мин.; 38 циклов – 98 °C – 10 сек., 50 °C – 5 сек., 60 °C – 4 мин. Очистку от не включившихся флуоресцентно меченных дидезоксинуклеотидтрифосфатов проводили, при помощи колонок Centri-Sep (Princeton Separations, США) по протоколу производителя. Анализ продуктов реакции проводили на автоматическом анализаторе ДНК ABI3130xl (Applied Biosystems, США) Центра коллективного пользования «Геномика» (ИХБФМ СО РАН).

ническую ситуацию практически во всех странах. Немцы, живущие в России и покинувшие Германию почти два с половиной века назад, находились в состоянии практически непрерывных миграций, не случайно по отношению к ним существует устойчивое определение «Volk auf dem Weg» – «народ в пути» и следует также учесть то обстоятельство, что большая их часть проживает в Сибирском регионе. Наличие в ис-

следуемой выборке, распространенных мутаций, вызывающих ФКУ в европейских популяциях есть следствие миграционных процессов [8]. Известно, что в европейских популяциях преобладают пять мутаций: R408W, R261Q, IVS10-11G>A, R158Q и IVS12+1G>A [9]. Исторически впервые была выявлена мутация сайта сплайсинга IVS12+1G>A, наиболее распространенная в Дании (более трети частоты от общего числа

аллелей ФАГ) [10]. Мутация IVS10-11G>A наиболее распространена в популяциях Южной Европы [11]. На долю R408W в популяциях Восточной Европы приходится до 80% и более от общего числа аллелей [12]. Мутация R261Q чаще встречается в Швейцарии (32 % аллелей) [13]. Мутация R158Q интересна тем, что имеет независимое происхождение в разных популяциях Западной Европы [13].

Таблица. Спектр и частота встречаемости мутаций в гене ФАГ

Локализация	Мутация	Число и частота аллелей	
		Новосибирская обл.	Кемеровская обл.
Экзон 1	S16>XfsX1	1 (0.7 %)	-
Интрон 1	IVS1+5G>T	1(0.7 %)	-
Экзон 2	L48S	2 (1.3 %)	1 (1.4 %)-
Интрон 2	IVS2+1delG	1 (0.7 %)	-
Интрон 2	IVS2+5G>A	1 (0.7 %)	-
Интрон 2	IVS2-13T>G	1 (0.7 %)	-
Экзон 3	R68S	-	1 (1.4 %)
Интрон 4	IVS4+5G>T	3 (2.1 %)	1 (1.4 %)
Экзон 5	R155H	-	2 (2.9 %)
Экзон 5	R158Q	7 (5 %)	2 (2.9 %)
Экзон 5	Y168H	-	1 (1.4 %)
Экзон 6	E221 D222>Efs	-	1 (1.4 %)
Экзон 6	D222>STOP	1 (0.7 %)	-
Экзон 7	R243Q	-	2 (2.9 %)
Экзон 7	R243X	1 (0.7 %)	1 (1.4 %)
Экзон 7	R252W	-	1 (1.4 %)
Экзон 7	R261Q	12 (8.5 %)	2 (2.9 %)
Экзон 7	R261X	2 (1.3 %)	-
Экзон 7	E280K	1 (0.7 %)	-
Экзон 7	P281L	4 (2.85 %)	2 (2.9 %)
Экзон 10	A342T	-	1 (1.4 %)
Интрон10	IVS10-11G>A	3 (2.1 %)	3 (4.2 %)
Экзон 11	Y386C	-	2 (2.9 %)
Экзон 11	E390G	1 (0.7 %)	-
Интрон 11	IVS11+1G>C	-	1 (1.4 %)
Экзон 12	A403V	1 (0.7 %)	-
Экзон 12	P407L	1 (0.7 %)	-
Экзон 12	R408Q	1 (0.7 %)	-
Экзон 12	R408W	86 (61.3 %)	39 (55.7 %)
Экзон 12	Y414C	2 (1.3 %)	3 (4.2 %)
Интрон 12	IVS12+1G>A	3 (2.1 %)	1 (1.4 %)-
-	X	4 (2.85 %)	3 (4.2 %)

Примечание. X- мутация не обнаружена.

Проведенный сравнительный анализ распределения частоты мутаций между исследуемыми регионами и центральными областями РФ не показал достоверных различий (рис.). Можно лишь отметить, незначительное увеличение значений частоты для двух мутаций, а именно: R158Q и R261Q и мутация I65T не была обнаружена. Частота встречаемости мутации R408W в исследуемой выборке сопоставима с частотой в регионах РФ, и в целом соответствует частоте

данной мутации в европейской популяции [14]. Частота этой мутации среди больных ФКУ Новосибирской области составила 61.3 %, Кемеровской – 55.7%. Анализ полученных данных показал, что целесообразным является поиск не только наиболее распространенной мутации R408W или наиболее частых мутаций (R261Q, IVS10-11G>A, R158Q и IVS12+1G>A), но и выявление всех мутаций, ассоциированных с ФКУ I типа.

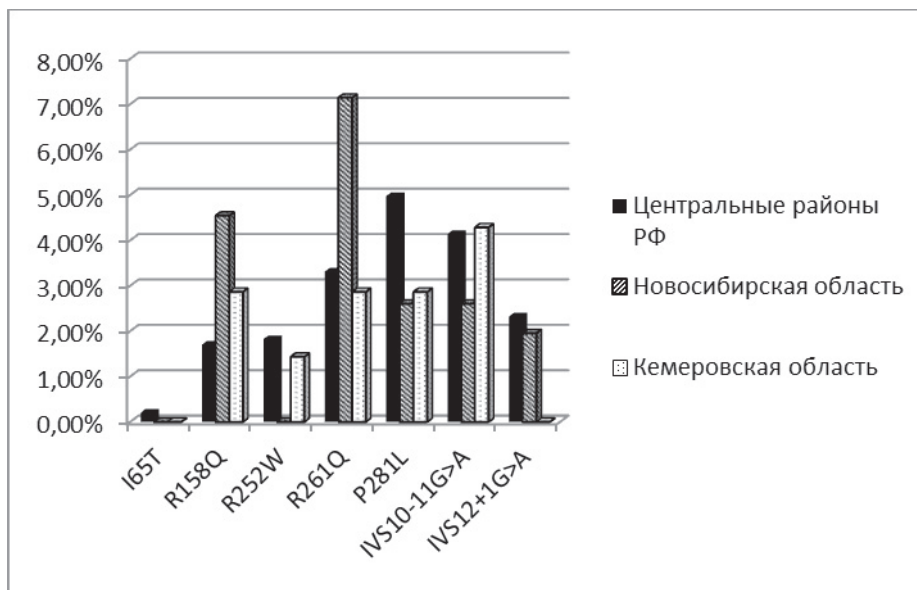


Рис. Распределение наиболее распространенных мутаций по регионам

В популяции Новосибирской области, помимо описанных выше мутаций нами выявлены редко встречающиеся мутации гена ФАГ. Мутация сайта сплайсинга IVS4+5G>T, возникающая на границе 4 экзона и 4 интрона гена ФАГ, вызывает сдвиг рамки считывания белка, начиная с 5 экзона гена ФАГ. Мутация IVS2+5G>A, возникающая на границе 2 и 3 экзона, изменяя сайт сплайсинга, нарушает вырезание интронов из первичного транскрипта мРНК, так что вырезается либо часть третьего экзона, либо весь экзон. Впервые данная мутация была описана в Германии [15]. Еще одна мутация сайта сплайсинга IVS2-13T>G, возникающая на границе 2 и 3 эк-

зона, обнаружена в сочетании с миссенс мутацией R408W. Мутация сайта сплайсинга IVS1+5G>T, возникающая в результате замены G на T в основании 60, в первом интроне гена ФАГ была отмечена в Дании [16]. В ходе данной работы были выявлены 3 делеции: делеция первого экзона S16>XfsX1, делеция второго экзона IVS2+1delG, делеция 6 экзона D222>STOP. Частота встречаемости составляет – 0.7 %.

Миссенс мутации: L48S, R243Q, R261X, Y414C, R243X, E280K, E390G, A403V, P407L, R408Q были обнаружены в 2, 7, 10, 12 экзоне, частота встречаемости перечисленных мутаций не превышает 2 % (табл.).

Спектр мутации, выявленный у пациентов Кемеровской области, представлен не так разнообразно. Мутация сайта сплайсинга IVS11+1G>C расположена на границе 11 экзона и 11 интрона гена фенилаланингидроксилазы. Впервые упоминается в 1995 году при описании больного из Индии. В обследуемой группе па-

циентов данная мутация была обнаружена у больного из Кемеровской области, в гетерозиготном состоянии в сочетании с мутацией сайта сплайсинга IVS10-11G>A. Делеция E221_D222>Efs 6 экзона встретилась один раз в гетерозиготном состоянии у пациента из Кемеровской области. Делеция двух пар оснований

(AG), затрагивающая 221 и 222 кодоны, приводит к сдвигу рамки считывания белка. Эта мутация описана в единичных случаях в Германии, Дании [16, 17]. Кроме того были обнаружены миссенс мутации: R68S, R155H, Y168H, R243Q, R243X, A342T, Y386C, Y414C в 3, 5, 7, 10, 11, 12 экзонах. Частота встречаемости не превышает 2–3 % (табл.). Возможные причины формирования наблюдаемого на территории Новосибирской области разнообразного спектра мутаций, ассоциированных с ФКУ, обусловлены особенностями миграционных процессов, в ходе которых формировалось современное население области. Так, в период с начала 1990-х годов Новосибирск в период сильного экономического кризиса стал крупным перераспределительным центром, куда был направлен миграционный приток русскоязычного населения из Казахстана и Средней Азии. Новосибирская область расположена на юге Западной Сибири, на оси Транссибирской железнодорожной магистрали, и входит в наиболее освоенную и заселенную зону Азиатской части России. Природные условия области благоприятны для проживания и ведения сельского хозяйства по сравнению с остальной обширной территорией Сибири и Дальнего Востока. Миграционный поток населения из Казахстана и республик Средней Азии в Новосибирскую область был наиболее массовым и продолжительным [18]. Приведенные данные объясняют наибольшее количество разнообразных мутаций, выявленных у пациентов медико-

генетической консультации г. Новосибирска.

Современная Кемеровская область – один из самых индустриальных регионов нашей страны. Высокий уровень загрязнения окружающей среды, отсутствие новых рабочих мест, слабо развитая социальная инфраструктурой делает этот регион менее привлекательным для миграционных потоков. До 2003 г. миграционный прирост был ниже среднего по стране и даже отрицательным. В последующие годы, когда экономика Кузбасса начала расти быстрее, увеличился и миграционный прирост [18]. Спектр мутаций, выявленный при исследовании пациентов Кемеровской области, не отличается таким большим разнообразием как в Новосибирской. В данной выборке наряду с характерными для Европы мутациями ФАГ мы обнаружили мутации, типичные для Юго-Восточной Азии и Турции мутации – R261Q и R243Q.

Таким образом, сравнительный анализ распределения частоты мутаций между исследуемыми регионами и центральным областям РФ не показал достоверных различий между исследуемыми регионами и центральным областям России. Мутация R408W в исследуемой выборке является преобладающей, ее частота встречаемости соответствует частоте данной мутации в европейской популяции. Спектр мутаций, выявленный при исследовании пациентов Новосибирской области, отличается большим разнообразием, чем среди больных Кемеровской области.

Литература

1. Guldberg P, Rey F, Zschocke J. et al. A European Multicenter Study of Phenylalanine Hydroxylase Deficiency: Classification of 105 Mutations and a General System for Genotype-Based Prediction of Metabolic Phenotype // *Am. J. Hum. Genet.* – 1998. – Vol. 63. – P. 71–79.
2. Scriver Ch. R. The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift // *Hum. Mut.* – 2007. – Vol. 28, № 9. – P. 831-845.
3. Okano Y., Eisenmith R.C., Guttler F. et al. Molecular basic of phenotypic heterogeneity in phenylketonuria // *N. Engl. J. Med.* – 1991. – Vol. 324. – P. 1232–1238.
4. Eisensmith R.C., Okano Y., Dasovich M. Multiple origins for phenylketonuria in Europe // *Am. J. Hum. Genet.* – 1992. – Vol. 51. – P. 1355–1365.
5. Смагулова Ф.О., Бреннер Е.В., Котова Л.Ю. и др. Идентификация мутаций гена фенилгидроксилазы с использованием автоматического секвенатора ДНК // *Генетика.* – 2004. Т. 40. – С. 1–5.
6. Steinfeld, R., Kohlschutter, A., Ullrich, K. et al. Efficiency of long-term tetrahydrobiopterin monotherapy in phenylketonuria // *J. Inher. Metab.* – 2004. – Dis. 27. – P. 449–45.
7. Смагулова Ф., Масленников А., Морозов И. и др. Мутации в структуре экзона 7 гена фенилаланингидроксилазы у больных фенилкетонурией Новосибирской области // *Генетика человека.* – 2000. – Т. 36. – С. 849–852.
8. Смирнова Т.Б. Миграции и динамика численности немецкого населения Западной Сибири в конце XIX–начале XXI в. // *Известия Алтайского государственного университета.* – 2007. –Т.4. – С. 174–181.
9. Zschocke J. Phenylketonuria mutations in Europe // *Hum. Mut.* – 2003. – Vol. 21. – P. 345–356.
10. DiLella A. G., Kwok S.C.M., Ledley F.D. et al. Molecular structure and polymorphic map of the human phenylalanine hydroxylase gene // *Biochemistry.* – 1986. – Vol. 25 – P. 743–749.
11. Perez B., Desviat L.R., Ugarte M. Analysis of Phenylalanine Hydroxylase gene in the Spanish population: Muta-

- tion profile and Association with Intragenic polymorphic markers. // *Am. J. Hum. Genet.* – 1997. – Vol. 60. – P. 95–102.
12. Eisensmith R.C., Woo S.L.C. Molecular basis of phenylketonuria and related hyperphenylalaninemias: Mutations and polymorphisms in the human phenylalanine hydroxylase gene. // *Hum. Mut.* – 1992. – Vol. 1. – P. 13–21.
 13. Eisensmith R.C., Okano Y., Dasovich M. et al. Multiple origins for phenylketonuria in Europe // *Am. J. Hum. Genet.* – 1992. – Vol. 51 – P. 1355–1365.
 14. Степанова А.А., Тверская С.М., Зинченко Р.А. и др. Молекулярно-генетическое исследование гена фенилаланингидроксилазы в группе российских больных фенилкетонурией // *Медицинская генетика.* – 2006. – Т. 44. – С. 32–44.
 15. Guldberg P, Mallmann R, Henriksen KF, et al. Phenylalanine Hydroxylase Deficiency in a Population in Germany: Mutational Profile and nine Novel Mutations // *Hum. Mut.* – 1996. – Vol. 8. – P. 276–279.
 16. Guldberg P., Henriksen K.F., Guttler F. Guttler F. Molecular analysis of phenylketonuria in Denmark: 99 % of the mutations detected by denaturing gradient gel electrophoresis // *Genomics.* – 1993. – Vol. 17 – P. 141–46.
 17. Zschocke J., Hoffman G.F. Phenylketonuria mutations in Germany // *Hum. Genet.* – 1999 – Vol. 104 – P. 390–398.
 18. Андреев Е.М., Алексеев А.И., Зубаревич Н.В. Россия регионов: в каком социальном пространстве мы живем? // *Независимый институт социальной политики.* М.: Поматур. – 2005 – 17–27.

BATURINA O.A., TUPIKIN A.E., BONDAR A.A., MOROZOV I.V.

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch, Russian Academy of Science Russia, 630090, Novosibirsk, Lavrentiev Av., 8, e-mail: Olga.Baturina@niboch.nsc.ru

A COMPARATIVE ANALYSIS OF GENE MUTATIONS PHENYLALANINE HYDROXYLASE (PAH) IN NOVOSIBIRSK AND KEMEROVO REGIONS

Aims. The study summarizes the diversity of PKU-associated mutations of phenylalanine hydroxylase (PAH) gene in PKU patients from Kemerovo and Novosibirsk region. **Methods.** To reveal the PAH gene mutations, the researchers applied amplification of DNA fragments covering gene exons with subsequent sequencing of the amplification products. **Results.** The study has revealed both well-known mutations (R158Q, R252W, R261Q, P281L, IVS10–11G>A, R408W, IVS12+1G>A) and some rare (IVS2+5G>A, R155H, Y168H, W187R, E221_D222>Efs, A342T, Y386C, and IVS11+1G>C). **Conclusions.** We show here that mixed ethnic populations demonstrate a wider PKU allele diversity in comparison with Central Russia. **Key words:** phenylketonuria; PAH, mutation.

ГЕНИК–БЕРЕЗОВСЬКА С.О.

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»

Україна, 79000, Львів, МСП-169, вул. Лусенка, 31а, e-mail: berezovska.s@gmail.com

ОЦІНКА РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ ПРИРОДЖЕНИХ ВАД РОЗВИТКУ СЕРЕД НОВОНАРОДЖЕНИХ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ЗА ПЕРІОД 2002–2012 РОКІВ

У більшості розвинутих країн в структурі дитячої захворюваності та смертності на перше місце виходять природжені вади розвитку (ПВР) та спадкова патологія. Це велика група захворювань, яка відрізняється за клінічними ознаками, структурою та генетичним прогнозом. Патологічні стани, в яких однією із складових є генетична компонента, можуть мати різний ступінь важкості та виникати в будь-якому віці. Але ті з них, які присутні у дітей з неонатального періоду, особливо згубні для здоров'я, оскільки можуть призвести до ранньої смерті або інвалідності. 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. По прогностичних оцінках до 2015 року частка здорових новонароджених зменшиться до 15–20 %, а частка новонароджених із вродженими та спадковими захворюваннями – збільшиться до 20–25 % [1]. Разом з тим, в статистичних даних, які наводяться американськими дослідниками, в структурі головних причин смерті вроджені вади займають перше місце, хоча і вказується, що майже половина померлих дітей з ВВР були недоношеними [2, 3]. Майже кожна третя мертвонароджена дитина також має цю патологію. 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 [4]. Одна із головних проблем дородової діагностики вроджених і спадкових захворювань полягає в тому, що в більшості випадків вони виникають по причині нових мутацій в молодих, не обтяжених анамнезом сім'ях, і обстеження тільки пацієнток, віднесених до групи ризику по віку і/або анамнезу не дозволяє

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 2002–2012 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 «Карту реєстрації здорової доношеної дитини» на здорову доношену дитину цієї ж статі, народжену в найкоротший проміжок часу від дитини з вадю 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 740 карт на дітей із ПВР та 733 карти на здорових дітей. Створено базу ПВР у форматі Excel. За рекомендаціями європейського реєстру брались до уваги наступ-

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 2002–2011 роки та 9 місяців 2012 року. За даний період заповнено 740 карт на дітей із природженими вадами розвитку та 733 карти на здорових дітей.

З ПВР народжені діти від першої вагітності – 49,1 %, другої – 24,6, третьої вагітності – 13,9 %, четвертої – 6,2 %, п'ятої вагітності – 3,4 %, шостої – 1,2 %, сьомої вагітності – 1,1 %; восьмої вагітності та десятої вагітності – 0,4%; в контрольній групі: від першої вагітності народжено 46,8% дітей, від другої – 29,4%, від третьої вагітності – 12,7 %, від четвертої – 10,2 %,

ефективно виявити дану патологію. Тому, в основі дородової діагностики вроджених і спадкових захворювань повинні бути не селективні, а скринінгові (масові) дослідження [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.

ні 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, редуційні вади кінцівок, полідактилія, омфалоцеле, гастрошизис, дефекти черевної стінки, діафрагмальна кіла, транспозиція магістральних судин, гіпоплазія лівих відділів серця, синдром Дауна, МПВР, мікроцефалія, ариненцефалія / голопрозенцефалія, анофтальмія, мікрофтальмія, атрезія хоан, атрезія або стеноз тонкого кишківника, гіпоспадія, 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 (odds ratio – OR), довірчий інтервал співвідношення шансів (Exp), P – величина статистичної значимості.

від п'ятої – 0,8 %, від шостої, сьомої, дев'ятої та одинадцятої вагітностей – 0,1 % дітей. Серед досліджуваної групи перші пологи були у 56,9 % матерів, другі – у 31,7 % матерів, треті – у 9,3 %, четверті – у 1,3 %, п'яті та шості – у 0,4 %, сьомі – у 0,3 % матерів; в контрольній групі: перші пологи були у 51,5% матерів, другі – у 37,8%, треті – у 9,2%, четверті – у 1,2%, шості, восьмі та одинадцяті – у 0,3% матерів.

Вагітність була бажаною – у 94,5% матерів досліджуваної групи, і в 96,8% матерів контрольної групи; небажаною: 4,2% – в групі ПВР та 1,4% – в контрольній групі. Інтервал між останніми вагітностями склав $3,7 \pm 3,1$ років в досліджуваній групі та $4,2 \pm 2,9$ років у контрольній групі ($P > 0,05$). В групі ПВР перша вагіт-

ність закінчилася артифіціальним абортom у 7,1 % випадків, в контрольній групі – в 5,3 % випадків. Загалом в досліджуваній групі артифіціальних абортів було у 11,7 % випадків, в контрольній – 9,9 % ($P>0,05$).

Самовільним викиднем закінчилося 63 вагітності в досліджуваній групі, з них 58 – викидні першого триместру, що становить 7,8 % випадків, в контрольній групі самовільний викидень був у 47-ох випадках, з них в першому триместрі – у 42-ох випадках – 5,7 % ($P>0,05$). Серед матерів групи ПВР померлі діти були у 16-ти випадках, що складає 2,1 %, в контрольній групі – у 8-ми випадках, що становить 1 %. Мертвонародження спостерігалися у 21-му випадку (2,8 %) досліджуваної групи та в 2-ох випадках (0,27 %) контрольної групи ($P<0,05$). Середнє значення віку початку менструації у матерів групи ПВР складає $13,4 \pm 1,1$ років і не має статистично значимої різниці ($P>0,05$) з контрольною групою, де цей показник становить $13,3 \pm 1,2$. Менструальний цикл матерів обох груп становив 25–35 днів, менструації тривали 3–8 днів. Регулярне вживання гормональних контрацептивів спостерігалось в 1,3 % випадків групи ПВР та в 1,1 % 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 44,7 % випадків досліджуваної групи та 42,8 % – контрольної групи ($P>0,05$). Ризик народження дитини (odds ratio – OR) з ПВР при анемії у матері складає 1,0 при довірчому інтервалі (0,31; 2,52).

Порівняння питомої ваги гестозу першої половини вагітності в досліджуваній та контрольній групах представлено в таблиці 2.

Гестоз першої половини вагітності у матерів був у 32,4 % випадків досліджуваної групи та 31,7 % – контрольної групи ($P>0,05$). Ризик народження дитини (OR) із ПВР при гестозі першої половини вагітності становить 1,0 при довірчому інтервалі (0,43; 2,51).

Порівняння питомої ваги гестозу другої половини вагітності в досліджуваній та контрольній групах представлено в таблиці 3.

Гестоз другої половини вагітності у матерів був у 34,3 % випадках досліджуваної групи та 32,6 % – контрольної групи ($P>0,05$). Ризик народження дитини (OR) із ПВР при гестозі другої половини вагітності становить 1,0 при довірчому інтервалі (0,53; 2,61).

Імунний конфлікт між матір'ю та дитиною був у 13-ти випадках досліджуваної групи та у

9-ох – контрольної групи. Рентгенорадіологічне обстеження протягом вагітності проводилося у 7-ми випадках групи ПВР та в одному випадку контрольної групи.

Перший термін проведення УЗД в досліджуваній групі становив – $17,4 \pm 7,1$, в контрольній – $18,3 \pm 8,2$ тижнів. Вдруге, ультразвукове дослідження в групі ПВР було проведено в середньому – в $24,4 \pm 6,3$ тижнів, в контрольній групі – в $25,7 \pm 6,2$ 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 УЗД дослідження було проведено у 47,9% випадків групи ПВР та у 50,2 % – контрольної групи ($P>0,05$). Вроджені аномалії при проведенні УЗД виявлено у 57 випадках, що становить 7,7 %.

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, гілоплазії лівих відділів серця та діафрагмальної киля, у 4-ох випадках спостерігався гастрошизис, в 1-му випадку – ВВР серця та у 3-ох випадках – щілина губи та піднебіння.

Наявність фізичної травми підтверджено у 19-ти випадках досліджуваної групи, а психічний стрес пережили 27 жінок. В контрольній групі фізична травма підтверджена у 6-ти жінок та заперечено психічний стрес.

Ускладненими були пологи у 40,3 % випадків групи ПВР та 41,5 % – контрольної групи ($P>0,05$). Патологічні пологи (кесарів розтин) спостерігалися у 58-ми випадках досліджуваної групи матерів, що становить 7,8 %, в контрольній групі – у 47-ми випадках (6,4 %). 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 12-ти випадках: 3 – природжений вивих стегна, двобічний, 1 – природжений коксартроз кульшових суглобів, косозміщений таз, 1 – полідактилія, 4 – 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 12-ти випадках: 2 – вроджена вада розвитку системи кровообігу, неуточнена (у брата матері досліджуваної групи) та дефект міжпередсердної перегородки (у старшої дитини), 1 випадок – spina bifida, 1 випадок – гіпоспадія, 2 – полідактилії (у діда по батьковій лінії та у двоюрідного брата), 5 – розщелини губи та піднебіння, 1 – редукційні вади кінцівок. В контрольній групі природжених аномалій та генетичних порушень у близьких родичів не спостерігалось. У 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 20-ти випадків у досліджуваній групі та 11-ти – у контрольній.

Таким чином, зареєстровано більшу кількість випадків мертвонароджень (2,8 %) у жінок

групи ПВР, ніж у жінок контрольної групи (0,27 % 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 рентгенодіагностичного обстеження, УЗД), ускладнених та патологічних пологів та генетичного анамнезу, не виявлено статистично значимої різниці між групою ПВР та контрольною групою ($P > 0,05$).

Таблиця 1. Порівняння питомої 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	331	44,7	314	42,8	1,0	> 0,05
Відсутні	335	45,3	338	46,1		
Невідомо	74	10,0	81	11,1		

Таблиця 2. Порівняння питомої 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	240	32,4	232	31,7	1,0	>0,05
Відсутні	418	56,5	441	60,1		
Невідомо	82	11,1	60	8,2		

Таблиця 3. Порівняння питомої 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	254	34,3	239	32,6	1,0	>0,05
Відсутні	396	53,5	397	54,2		
Невідомо	90	12,2	97	13,2		

Висновки

1. На основі порівняння спектру показників репродуктивного анамнезу виявлено, що з ПВР народжені діти найчастіше від першої вагітності – 49,1 % та перших пологів – 56,9 %, та відповідно в групі контролю – 46,8 % і 51,5 % протягом періоду 2002–2012 років.

2. Не виявлено статистично значимої різниці щодо відсотку артіфіціальних абортів (11,7 %), самовільних викиднів (7,8 %), померлих дітей (2,1 %) у матерів досліджуваної групи ($P>0,05$) в порівнянні з контрольною (9,9 %, 5,7 % та 1 % відповідно).

3. Виявлено статистично значиму різницю ($P<0,05$) щодо відсотку мертвонароджень, (2,8 %) у матерів, які народили дитину з природженою вадою розвитку порівняно із жінками контрольної групи (0,27 %) відповідно.

4. У результаті порівняння особливостей перебігу вагітності не встановлено 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 (0,31; 2,52). Ризик народження дитини із ПВР при гестозі першої половини вагітності становить 1,0 при довірчому інтервалі (0,43; 2,51). Ризик народження дитини із ПВР при гестозі другої половини вагітності становить 1,0 при довірчому інтервалі (0,53; 2,61).

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. Киреев С.С., Ларченко В.И. Интенсивная терапия и периоперационный период у новорожденных детей с врожденными пороками развития // Глава I Неонатология, хирургия та перинатальна медицина. – 2012.– Т. II, №2 (4).– С. 91–103.
2. Callaghan W.M., MacDorman M.F., Rasmussen S.A. The Contribution of Preterm Birth to Infant Mortality Rates in the United States // Pediatrics.– 2006.– V. 118 – P. 1566–1573.
3. Журило И.П., Фоменко С.А., Иващенко Т.И. и др. Анализ структуры отдельных врожденных пороков развития у новорожденных в Донецкой области // Неонатология, хирургия та перинатальна медицина. – 2012.– Т. II, №1 (3). – С. 31–36.
4. Балева Л.С., Кобринский Б.А., Лаврентьева Е.Б. и др. Проблемы реабилитации детей-инвалидов в Российской Федерации (по данным федерального регистра) // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2011. – №32. – С.5–12.
5. Чуканов А.Н., Тихоненко И.В., Лобачевская О.С. Комплексный подход к совершенствованию пренатальной диагностики врожденных пороков развития человека // Неонатология, хирургия та перинатальна медицина. – 2011.– Т. I, №1. – С. 21–25.

HENYK–BEREZOVSKA S.O.

State Institution «Institute of Hereditary Pathology» Academy of Medical Sciences of Ukraine
Ukraine, Lviv, 79000, Lysenka str., 31 a., e-mail: berezovska.s@gmail.com

ESTIMATION OF CONGENITAL MALFORMATIONS RISK ORIGIN AMONG NEWBORNS IN LVIV DISTRICT DURING 2002–2012

Aims. The analysis of prenatal risks factors among womens, which gave birth to newborns with congenital malformations and control groups in Lviv district during 2002–2012 was carried out. **Methods.** Analysis of clinical-epidemiological and medical-statistics datas in medical documentations from maternities hospitals of Lviv district using «case-control» method was carried out. **Results.** The statistically significant increase ($P<0,05$) in stillborns (2,8 %) among mothers of examined group comparatively to control group (0,27 %) was revealed. **Conclusions.** Genetic monitoring of congenital malformations could estimate level of hereditary pathology among newborns and prevent risk factors of it's origin in population.

Key words: epidemiology, congenital malformations, genetic monitoring, newborns.

ГОРПИНЧЕНКО М.Ю., УТЕВСКАЯ О.М., АТРАМЕНТОВА Л.А.

Харьковской национальной университет имени В.Н. Каразина

Украина, 61022, г. Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: gelios-01@mail.ru

МИГРАЦИОННАЯ СТРУКТУРА НАСЕЛЕНИЯ ВАЛКОВСКОГО РАЙОНА ХАРЬКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ПО ДАННЫМ О КВАЗИГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЁРАХ

Одним из видов квазигенетических маркёров, позволяющих осуществлять масштабные исследования при невысоких затратах, являются фамилии, которые, как правило, передаются от отца к сыну и далее в поколениях, повторяя характер наследования Y-хромосомных вариантов. Частоты фамилий в популяциях можно рассматривать как частоты аллелей одного локуса и применять к ним стандартные подходы популяционной генетики. Методику использования фамилий в качестве аналога генетических маркёров предложили Дж.Ф. Кроу и А.П. Мэндж в

1965 году [2]. С тех пор фамилии применялись для изучения генофондов европейских популяций [1, 3, 4, 5], в том числе и российских [6, 7, 8, 9]. В частности, по квазигенетическим маркёрам была изучена генетическая структура алтайских, северо-кавказских, приуральских, среднеазиатских и других популяций. На высоком уровне исследована Белгородская область РФ [8, 9]. По украинским популяциям, однако, такие работы отсутствуют, и представленное исследование является одним из первых.

Материалы и методы

Исследовался Валковский район Харьковской области. Территория района составляет 1011 км², численность населения на 2006 г. составила 35 тыс. человек, в районе 102 населённых пункта.

Район исследован по разнообразию фамилий тотально, всего проанализирована информация о 30 447 жителях района, среди которых выявлено 2375 фамилий. В исследовании использовались данные о пунктах с населением от 50 до 11 500 человек. Для исключения случайных и недавних мигрантов в исследование включались фамилии, частота которых в районе была не ниже 5, в селах с населением более 250 человек – не ниже 3, малые сёла обследовались полностью. Популяцией считался один населённый пункт. Все фамилии были

приведены к единому стандарту (женские формы фамилий были заменены на мужские).

Для расчёта частоты фамилий в каждой популяции использовалась программа Microsoft Office Excel 2007. Расчёт квазигенетических расстояний проводился с помощью программы Statistica 8 (кластерный анализ, евклидовы расстояния), расчёт географических расстояний проводился по координатам (программа DistGeo, разработана в МГНЦ РАМН под руководством О.П. Балановского, г. Москва). Корреляция между матрицами квазигенетических и географических расстояний была рассчитана по методу Мантеля (программы Arlequin 3.1). Для 100 наиболее частых фамилий проанализировано этническое происхождение (согласно рекомендациям <http://genofond.ru>).

Результаты и обсуждение

Среди 30 447 жителей района встретилось 2375 фамилий. Наиболее частые из них представлены в таблице.

Анализ сопряжённости между географическими и квазигенетическими межпопуляционными расстояниями проводился с использованием корреляционного теста по Мантелю. По результатам теста коэффициент корреляции $r = 0.017 \pm 0.002$, то есть значимая корреляция отсутствует. Аналогичные результаты получены для ряда европейских стран [4]. Это свидетельствует, прежде всего, о высокой миграционной активности населения района, которая приводит к сглаживанию локальных генетических различий.

Более детальная картина географической подразделённости по фамильным маркёрам получена по результатам кластерного анализа. Все населённые пункты объединились в несколько кластеров (рис. 1).

Этническое происхождение фамилий отражает миграционные потоки, которые формировали население района. Харьковская область граничит с Россией, её население исторически сформировано переселившимися украинцами из Правобережной Украины, которые в 17 веке защищали южные границы от набегов крымских татар. Анализ фамилий по этническому происхождению позволил выявить следы этих миграционных потоков. Проанализировав фамилии по

етническому происхождению, мы получили данные, представленные на рис. 2. Подавляющее большинство фамилий (63 %), встреченных в Валковском районе, имеют украинское происхождение. Фамилии с общеславянскими этно-маркёрами составляли около 14 %. Белорусские, русские и тюркские фамилии составляли соответственно 5 %, 3 % и 2 %. Эти данные соотно-

сятся с результатами переписи населения 2001 г. (ukrcensus.gov.ua), согласно которым в районе доминирующим является украинской этнос (более 95 %). Для ряда фамилий этническое происхождение определить не удалось, так как они образованы от кличек, названий предметов быта, ремёсел и не соотносятся с определёнными этносами.

Таблица. Наиболее распространённые фамилии в Валковском районе Харьковской области

№ п/п	Фамилия	Количество носителей	№ п/п	Фамилия	Количество носителей	№ п/п	Фамилия	Количество носителей
1	ГУБСЬКИЙ	435	18	ГОНЧАРЕНКО	133	35	ПОЛТАВСЬКИЙ	108
2	ОЛЬХОВСЬКИЙ	320	19	ПАНЧЕНКО	133	36	ВАЩЕНКО	104
3	МАКАРЕНКО	279	20	КРАВЧЕНКО	130	37	БУЦЬКИЙ	102
4	ШЕВЧЕНКО	265	21	ПОНОМАРЕНКО	129	38	БОЇДАР	102
5	БІЛЕЦЬКИЙ	256	22	КОВАЛЕНКО	128	39	НАЗАРЕНКО	102
6	БОНДАРЕНКО	243	23	ХАРЧЕНКО	128	40	КИРИЧЕНКО	101
7	САВЧЕНКО	226	24	ІВАНСЬКИЙ	124	41	НЕСТЕРЕНКО	101
8	МЕЛЬНИК	216	25	САЛАЩЕНКО	124	42	КАДИГРІБ	101
9	КОРСУН	178	26	КОЛЯДА	123	43	СУПРУН	100
10	ПЕТРЕНКО	166	27	ХВОРОСТ	116	44	СВИНАР	96
11	КОЛІСНИК	165	28	КОСЕНКО	115	45	БОРИСЕНКО	95
12	ПЕРЕСАДА	157	29	РОЗУМНИЙ	114	46	ВЛАСЕНКО	95
13	ГУРА	153	30	КОВАЛЬ	111	47	МИНКО	95
14	КЛИМЕНКО	153	31	МІЗЯК	111	48	ПАСНИК	91
15	ЦИБУЛЬНИК	148	32	ТУПИЦЯ	111	49	СТЕПАНЕНКО	91
16	КОБЗАР	146	33	МИРОШНИЧЕНКО	110	50	ВОЙТЕНКО	89
17	КОТЕЛЕВЕЦЬ	134	34	ГУДЗЕНКО	108			

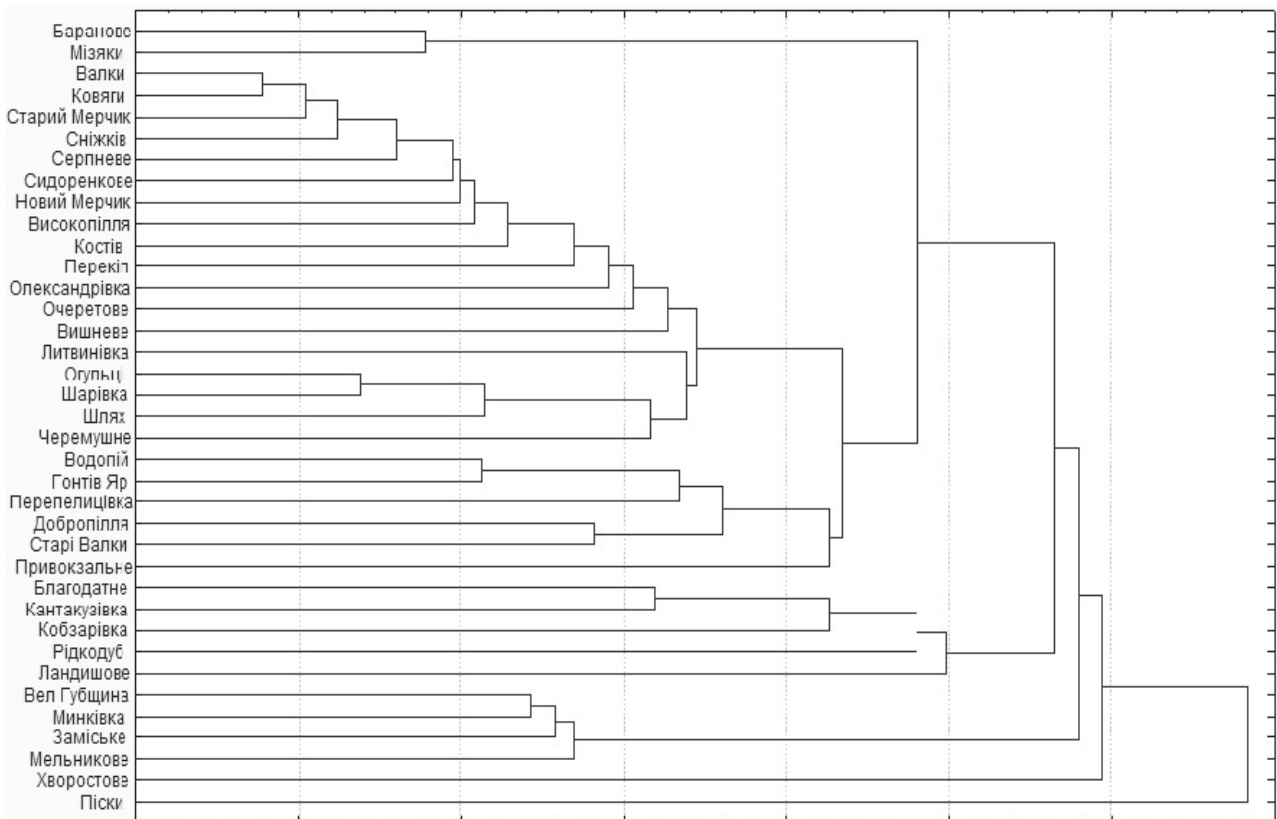


Рис. 1. Дендрограмма сходства населённых пунктов друг с другом на основании квазигенетических маркёров

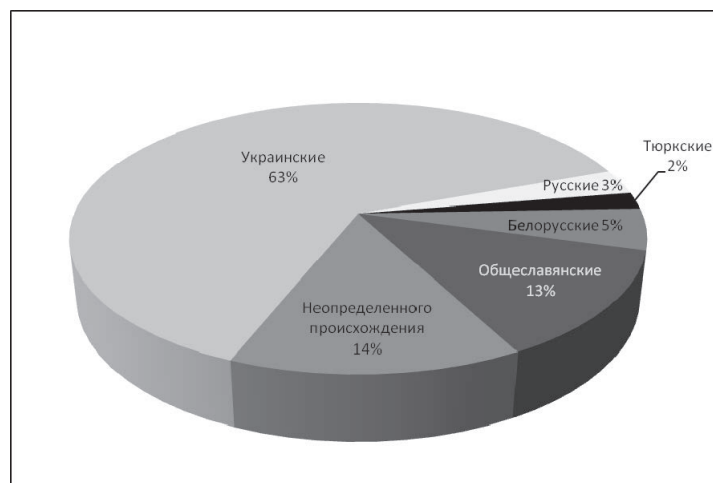


Рис. 2. Частотное распределение фамилий по этнической принадлежности

Выводы

Преобладание среди населения Валковского района Харьковской области фамилий с украинскими этномаркерами маркирует исторически документированное заселение района в 17 веке выходцами с территории Правобережной Украины. Небольшой процент фамилий иного этнического происхождения свидетельствует о практическом отсутствии миграции в район из смежных регионов России и Беларуси.

Квазигенетические расстояния между популяциями, рассчитанные по фамилиям, не связаны с географической удалённостью населённых пунктов, что свидетельствует об интенсивных миграциях внутри района, которые перемешивают население, делая его генетически однородным. В одном случае обнаружена кластеризация нескольких географически близких популяций по сходству квазигенетических маркеров.

Литература

1. Barrai I., Rodriguer-Larralde A., Mamolini E., Scapoli C. Isonymy and isolation by distance in Italy // *Ann. Human Biol.* – 1999. – Vol. 71, № 6. – P. 947–961.
2. Crow J.F., Mange A.P. Measurement of inbreeding from the frequency of marriages between person of the same surname // *Eugen. Quart.* – 1965. – Vol. 12. – P. 199–203.
3. Lasker G.W., Mascie-Taylor C.G.N. Surnames in the five English villades: relationship to each other, to surrounding areas and to England and Wales // *J. Biosoc. Sci.* – 1983. – Vol. 15. – P. 25–34.
4. Rodriguer-Larralde A., Gonzales-Martin A., Scapoli C., Barrai I. The names of Spain: a study of the isonymy structure of Spain // *Am. J. Phys. Antropol.* – 2003. – Vol. 121, №3. – P. 280–292.
5. Rodriguer-Larralde A., Barrai I., Nesti C. et all. Isonymy and isolation by distance in Germany // *Ann. Human Biol.* – 1998. – Vol. 70, № 6. – P. 1041–1056.
6. Балановская Е. В., Балановский О. П. Русь фамильная // *Химия и жизнь.* – 2007. – №7.
7. Сорокина И. Н., Лепендина И.Н., Рудых Н.А., Верзилина А.В., Чурносов М.И. Фамилии как квазигенетические маркеры при популяционно-генетических исследованиях // *Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация.* – 2010. – №22, вып. 12. – С. 72–79.
8. Сорокина И.Н., Балановская Е.В., Чурносов М.И. Генофонд населения Белгородской области. I. Дифференциация всех районных популяций по данным антропонимики // *Генетика.* – 2007. – Т. 43, №6. – С. 418–449.
9. Сорокина И.Н., Чурносов М.И., Балановская Е.В. Генофонд населения Белгородской области. II. «Фамильные портреты» в группах районов с разным уровнем подразделенности и роль миграций в их формировании // *Генетика.* – 2007. – Т. 43, №8. – С. 1120–1128.

GORPINCHENKO M.Y., UTEVSKAYA O.M., ATRAMENTOVA L.A.

V.N. Karazin National University of Kharkiv

Ukraine, 61022, Kharkov, Svoboda sq., 4, e-mail: gelios-01@mail.ru

THE POPULATION MIGRATION STRUCTURE OF THE VALKY DISTRICT (KHARKOV REGION) USING QUASIGENETIC MARKERS DATA

Aims. To study the migration structure by surnames used as quasigenetic markers. **Methods.** Totally 30,447 peoples and 2375 surnames were analyzed. The interpopulation quasigenetic distancies were calculated by surnames frequencies. The association between the geographic and quasigenetic distancies was estimated by

the Mantel test. The ethnicity was analyzed for the 100 of most common surnames. **Results.** The correlation coefficient between geographic and quasigenetic interpopulation distances was not statistically significant ($r = 0.017$, $p > 0.05$). About 63 % of the analyzed surnames have Ukrainian origin, 14 % – Slavonian, 5 % – Belarusian, 3 % – Russian and 2 % – Turkic. **Conclusions.** Surnames, as quasigenetic markers, reflect the migration processes in the study area, i.e. the early colonization of the region by migrants from the Western Ukraine and the intensive intraregional migration leading to the genetic homogeneity of the populations. *Key words:* surname, migration, quasigenetic markers, etnomarkery, Kharkiv region, Ukraine.

ДИБКОВ М.В.¹, ЗАВЕЛЕВИЧ М.П.², ГЛУЗМАН Д.Ф.², ПОЛЩУК Л.О.¹, МАЛЮТА С.С.¹, ТЕЛЕГЕСЬ Г.Д.¹

¹ Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Україна, 03680, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: m.v.dybkov@imbg.org.ua

² Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.С. Кавецького НАН України
Україна, 03022, м. Київ, ул. Васильківська, 22

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕТОДИ В ДІАГНОСТИЦІ ГОСТРИХ ЛЕЙКЕМІЙ

Гострі лейкемії – біологічно гетерогенна група захворювань кровотворної системи в основі розвитку яких лежить неконтрольована проліферація стовбурових кровотворних клітин чи клітин-попередників.

Згідно останніх статистичних даних ВООЗ та Національного канцер-реєстру України середньорічний показник захворюваності становить 3–5 на 100 000 населення [1, 2]. Питома вага гострих лейкемій є особливо високою у дітей та молоді 17–28 років. Тому є вкрай необхідною є своєчасна діагностика і визначення біологічного підтипу лейкемії, оскільки це забезпечить правильну тактику лікування і прогнозування перебігу захворювання. У випадку гострої лейкемії це вкрай непросте завдання оскільки згідно останньої ревізії четвертої ревізії класифікації та діагностичних критеріїв ВООЗ розрізняють більше 20 підтипів даної групи захворювань. На сьогодні для діагностики залучають комплекс сучасних підходів та методів, передусім цитоморфологічних, цитохімічних, методів імунофенотипування антигенів патологічних клітин, цитогенетичних методів. Окрім того значно розширено використання молекулярно-генетичних маркерів в якості одного з діагностичних критеріїв.

На сьогодні випадки гострої лейкемії поділяють на гострі лейкемії мієлоїдного походження, гострі лімфобластні лейкемії, гострі лейкемії недиференційовані. Кожна з цих груп поділяється на ряд підтипів.

Гостра мієлоїдна лейкемія (ГМЛ) – захворювання, що характеризується злюкисною трансформацією мієлоїдних клітин-попередників. Питома вага хворих на ГМЛ у дорослих складає

до 80% від усіх хворих на гостру лейкемію з піком захворюваності після 60 років. Серед дітей дай тип лейкемії спостерігається в 15-20% випадків від хворих на гостру лейкемію дітей. В диференціюванні даної групи лейкемії використовуються цитогенетичне та молекулярно-біологічне виявлення таких аномалій транслокації $t(8;21)(q22;q22)$ і, відповідно, на молекулярному рівні злитого гена $runx1-runx1t1$, $inv(16)(p13.1q22)$ або $t(16;16)(p13.1;q22)$ – $cbfb-myh11$, $t(15;17)(q22;q12)$ – $pml-rara$, AML with $t(9;11)(p22;q23)$ – $mllt3-mll$, $t(6;9)(p23;q34)$ – $deknup214$, $inv(3)(q21q26.2)$ або $t(3;3)(q21;q26.2)$ – $rpn1-evi1$, $t(1;22)(p13;q13)$ – $rbm15-mkl1$, мутації в генах $pml1$ та $cebpa$ [1].

Гостра лімфобластна лейкемія – захворювання, що характеризується неконтрольованою проліферацією незрілих трансформованих лімфоїдних клітин. Розрізняють В-клітинні форми ГЛЛ які складають 80-85 % і, відповідно, Т-клітинні – 15-20 % від всіх випадків ГЛЛ. Для гострої лімфобластної лейкемії у дітей при своєчасній постановці діагнозу характерна висока частота одужання. Так загальна виживаність сягає 80-86%, а безрецидивна п'ятирічна – 76-83%. При диференціюванні В-клітинних гострих лімфобластних лейкемій із характерними генетичними аномаліями класифікація ВООЗ виділяє такі перебудови: транслокацію $t(9;22)(q34;q11.2)$ і, відповідно, на молекулярному рівні злитий ген $bcr-abl1$, $t(v;11q23)$ (основні типи – $t(4;11)(q21;q23)$ та $t(9;11)(p22;q23)$), $t(12;21)(p13;q22)$ – $tel-aml1$, $t(5;14)(q31;q32)$ – $il3-igh$, $t(1;19)(q23;p13.3)$ – $tcf3-pbx1$ [1].

Раніше для аналізу генетичних змін які відбуваються у хворих зі злюкисними новоутвоо-

реннями використовували переважно каріотипування за допомогою методу диференційного забарвлення метафазних хромосом, який дозволяє виявляти хромосомні перебудови, делеції, інверсії тощо. Саме філадельфійська хромосома t(9;22)(q34;q11) стала першим цитогенетичним маркером злоякісних новоутворень людини. Даний метод і досі є важливим і обов'язковим при клінічних обстеженнях пацієнтів оскільки він дозволяє проаналізувати каріотип хворого і виявляти додаткові хромосомні порушення, що може мати значення при призначенні курсу лікування та контролю стану в період ремісії. Разом з тим він має значні обмеження, насамперед через достатньо низьку чутливість та необхідність, в більшості випадків, проведення пункції кісткового мозку. Ще одним цитогенетичним методом є метод FISH – флуоресцентної гібридизації на препараті. Разом з цим все більш широкого застосування у клінічній практиці набувають молекулярно-генетичні методи діагностики. Насамперед це стосується використання полімеразної ланцюгової реакції, яка завдяки використанню специфічних праймерів і термоста-

Матеріали і методи

У роботі використовували вісім зразків крові хворих (за інформованої згоди), що проходили лікування в гематологічних клініках м. Києва. РНК виділяли згідно [6]. Виявлення злитого гена bcr-abl1 (транслокація t(9;22)(q34;q11.2)) проводили як описано нами раніше [7-8]. Зворотну транскрипцію проводили у суміші об'ємом 30 мкл, що містила буфер для зворотної транскриптази, 1 мМ dNTP, 0,1 мкг праймера Random Hexamer Primer, 300 од зворотної транскриптази RevertAid™ M-MuLV Reverse Transcriptase (Fermentas), 20 од РНАзіну та 1–3 мкг РНК. Реакцію проводили при 42 оС протягом 1 год і зупиняли прогріванням при 70 оС 10 хв, 2 мкл кДНК використовували для проведення ПЛР. Праймери підбирали за допомогою програми Generunner (freeware) із залученням послідовностей NM_001197104.1 (mll), NM_004529.2 (af9 або mllt3) та nm_001166693.1 (af4 або aff1). Проводили гніздову полімеразну ланцюгову реакцію в об'ємі 20 мкл. Для першого етапу виявлення злитого гена mll/af4 використовували праймери MLL-F GAGCAGTGTGTGAAGAACGTG та AF4-R AGGAAGTGTCTGAGTCACTGGTG. Для другого етапу використовували праймери MLL-F1 AAGAGTGAAGAAGGGAATGTC та AF4-R1 GTTTGTTCACTGTCACTGTCC. ПЛР проводи-

більної полімерази дозволяє виявляти специфічний фрагмент ДНК (або РНК при проведенні реакції зворотної транскрипції) в кількості, достатній для розділення і аналізу ампліфікатів в агарозному гелі. У даній роботі наводиться метод виявлення, злитих генів mll/af4 (і, відповідно, транслокації t(4;11)(q21;q23)) та mll/af9 (t(9;11)(p22;q23) у хворих на гостру лейкемію. Транслокацію t(4;11)(q21;q23) виявляють у 50–70% ГЛЛ немовлят, 5% ГЛЛ у дорослих (переважно CD19+ CD10- про В-ALL (CD19+, CD10-, cd24-), а також у пацієнтів хворих на гостру мієлобластну лейкемію М4/М5 типів. На молекулярному рівні дана транслокація призводить до утворення злитого гену mll/af4 [3].

Транслокації t(9;11)(p22;q23) виявляють переважно у клітинах крові пацієнтів хворих на ГМЛ, переважно типу М5 та М4. Вона виникає як de novo, так і внаслідок терапії препаратами проти топоізомерази II. Загалом частота даної перебудови складає 2–5 % випадків ГЛЛ (до 25% de novo М5а у дітей). На молекулярному рівні дана транслокація призводить до утворення злитого гену mll/af9 [4,5].

ли за таких умов: для першого етапу ПЛР: 93°С – 2 хвилини, 1 цикл, далі 30 циклів: 93,5°С – 40 с; 55°С – 40 с; 72 °С – 2хв; для другого етапу ПЛР: 93°С – 2 хвилини, 1 цикл, далі 30 циклів: 93,5°С – 40 с; 55°С – 30 с; 72°С – 1,5 хв. Для першого етапу виявлення злитого гена mll/af9 (варіант розриву між 4 та 5м екзоном гена af9) використовували праймери MLL-F та AF9-R5 GTATCAGTGGTGGTGCCTAG. Для другого етапу використовували праймери MLL-F1 та AF9-R51 GTGCTCCTTCATTAATTTGTG. ПЛР: 93°С – 2 хвилини, 1 цикл, далі 30 циклів: 93,5°С – 40 с; 55°С – 40 с; 72°С – 2хв; для другого етапу ПЛР: 93°С – 2 хвилини, 1 цикл, далі 30 циклів: 93,5°С – 40 с; 55°С – 30 с; 72°С – 1,5 хв. Для першого етапу виявлення злитого гена mll/af9 (варіант розриву між 5-10ми екзонами гена af9) використовували праймери MLL-F та AF9-R10 TCCAGTTGTTATATCCTCAGGATG. Для другого етапу використовували праймери MLL-F1 та AF9-R101 TCTATAAGGTTTCACGATCTGC. ПЛР: 93°С – 2 хвилини, 1 цикл, далі 30 циклів: 93,5°С – 40 с; 55°С – 40 с; 72°С – 2хв; для другого етапу ПЛР: 93°С – 2 хвилини, 1 цикл, далі 30 циклів: 93,5°С – 40 с; 54°С – 30 с; 72°С – 1,5 хв. Продукти ампліфікації аналізували в 2 % агарозному гелі.

Результати та обговорення

Як було зазначено вище, існує кілька підходів до виявлення генетичних змін у хворих на гостру лейкемію. До основних відносять метод диференційного забарвлення метафазних хромосом, флуоресцентної гібридизації на препараті (FISH) та методи виявлення злитих генів за допомогою ПЛР. Кожен з методів має як переваги так і недоліки. Так метод диференційного забарвлення дозволяє проводити аналіз каріотипу в цілому і виявляти додаткові хромосомні реорганізації, в тому числі і ті, які виникають внаслідок застосування лікарських засобів. Однак дана методика вимагає високої кваліфікації, значного часу на проведення аналізу і має відносно невисоку чутливість. Метод гібридизації із флуоресцентними зондами на препараті має значно більшу чутливість, але є дорогим і дозволяє виявляти лише конкретний тип перебудови. До переваг ПЛР відносять насамперед те, що для проведення більшості аналізів не потрібно проводити досить травматичну процедуру - пункцію кісткового мозку, а достатньо лише провести забір

крові у хворого, невисока вартість одного аналізу та незначний час на його проведення і отримання результату. Тому створення тест-систем для виявлення основних типів злитих генів і їхнє впровадження у практику роботи молекулярно-генетичних центрів України, що створюються останнім часом є важливим завданням. Запропонований нами метод виявлення злитих генів *mll/af4* та *mll/af9* є складовою частиною комплексної системи для диференційної діагностики лейкемій. В якості позитивного контролю використовували виявлення транскриптів нормального гомологу гена *abl* [7, 8] та гена *jak2* [9]. За допомогою запропонованої системи проаналізували дванадцять зразків крові хворих на ГЛ. У п'яти зразках крові було виявлено злитий ген *bcr/abl* (варіант *p190*). При аналізі зразка крові хворого Ф (рис.) після першого етапу ПЛР було виявлено крім позитивних контролів (доріжки 1 та 7) ампліфікат в доріжці 4, що вказує на наявність транскрипту гена *mll/af4* (і відповідно транслокації *t(4;11)(q21;q23)*).

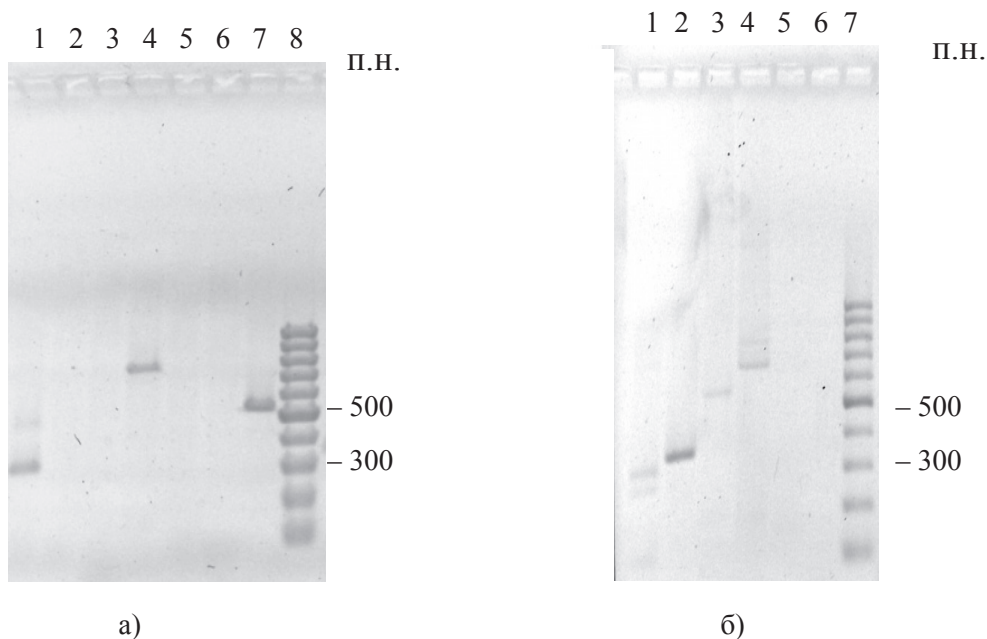


Рис. Електрофореграма розділення ампліфікатів після першого (а) та другого (б) етапів ЗТ-ПЛР аналізу зразка РНК хворого Ф. а) 1 – позитивний контроль (виявлення транскриптів нормального гомологу гена *abl* [за 8]); 2 – виявлення *p190 bcr/abl* [за 8]; 3 – виявлення *p210 bcr/abl* [за 7]; 4 – виявлення злитого гена *mll/af4*; 5 – виявлення злитого гена *mll/af9*; 6 – виявлення злитого гена *mll/af9*; 7 – позитивний контроль (виявлення транскриптів гена *jak2* [за 9]); 8 – маркер розмірів ДНК GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Fermentas. б) 1 – позитивний контроль (виявлення транскриптів нормального гомологу гена *abl* [за 8]); 2 – виявлення *p190 bcr/abl* [за 8]; 3 – виявлення *p210 bcr/abl* [за 7]; 4 – виявлення злитого гена *mll/af4*; 5 – виявлення злитого гена *mll/af9*; 6 – виявлення злитого гена *mll/af9*; 7 – маркер розмірів ДНК GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Fermentas.

Оскільки рівні експресії злитих генів часто недостатні для їхнього виявлення впродовж одного етапу ПЛР, було проведено другий етап ПЛР. Як видно з рис.1 (б) крім підтвердження наявності транскрипту гена *mll/af4* (доріжка 4) виявлено перебудову *bcr/abl* (яка є наслідком транслокації t(9;22)(q34;q11)) причому як варіант p190 *bcr/abl* (e1/a3 варіант перебудови) (доріжка 2), так і p210 *bcr/abl* (e14/a3 варіант перебудови). Раніше було описано лише одиничні випадки одночасного виявлення такої комбінації злитих генів у хворих на ГЛЛ.

Таким чином, запропонована методика виявлення злитих генів *mll/af4* та *mll/af9* може використовуватись для генетичної діагностики гострих лейкемій. Її використання у поєднанні з цитоморфологічними, цитохімічними методами та імунофенотипуванням є важливою складовою запропонованої нами комплексної системи первинної та диференційної діагностики гострих лейкемій різного генезу, а також контролю динаміки протікання захворювання та ефективність лікування.

Література

1. Swerdlow, S.H., Campo, E., Harris, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, Fourth Edition. – Lyon: IARC Press, 2008. – P. 12–18.
2. Федоренко З.П., Гайсенко А.В., Гулак Л.О., та ін Рак в Україні, 2010 – 2011. Захворюваність, смертність, показники діяльності онкологічної служби / Бюлетень Національного канцер-реєстру УКРАЇНИ Видання № 13 (під ред. Щепотіна І.Б.). – Київ, 2012. – С. 91–95.
3. Bueno C, Montes R, Catalina P, et al. Insights into the cellular origin and etiology of the infant pro-B acute lymphoblastic leukemia with MLL-AF4 rearrangement // *Leukemia*. – 2011. – Vol. 25. – P. 400–410.
4. Langer T, Metzler M, Reinhardt D. et al. Analysis of t(9;11) chromosomal breakpoint sequences in childhood acute leukemia: almost identical MLL breakpoints in therapy-related AML after treatment without etoposides // *Genes Chromosomes Cancer*. – 2003. – Vol. 36. – P. 393–401.
5. Gulley ML, Shea TC, Fedoriw Y. Genetic tests to evaluate prognosis and predict therapeutic response in acute myeloid leukemia // *J Mol Diagn*. – 2010 – Vol. 12, N.1. – P. 3–16.
6. Chomczynski P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction // *Analyt. Biochem*. – 1987. – Vol. 162. – P. 156–159.
7. Малюта С.С., Телегеев Г.Д., Дибков М.В., Мірошниченко Д.О., Сельська Г.В. Розробка тест-системи для діагностики Ph-лейкемій за допомогою полімеразної ланцюгової реакції // *Наука та інновації*. – 2005. – Т.1. – С.70–75.
8. Телегеев Г.Д., Дибков М.В., Божко М.В. Демиденко Д.В., Малюта С.С., Третяк Н.М., Бондар М.В. Моніторинг хронічного мієлолейкозу за допомогою молекулярно-біологічних методів (методичні рекомендації) // Республіканський центр науково-медичної інформації. – Київ, 1997. – С. 10–15.
9. Дибков М.В., Гартовська І.Р., Малюта С.С., Телегеев Г.Д. Виявлення мутації V617F гена *jak2* у хворих на хронічні мієлопроліферативні неоплазми // *Biopolymers and Cell*. – 2010. – Vol. 26. – P. 214–217.

DYBKOV M.V.¹, ZAVELEVICH M.P.², GLUZMAN D.F.², POLISHCHUK L.O.¹, MALIUTA S.S.¹, TELEGEEV G.D.¹

¹ Institute of Molecular Biology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine 150, Ukraine, 03680, Kyiv, Zabolotnogo str, e-mail: m.v.dybkov@imbg.org.ua

² R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology Oncology and Radiobiology National Academy of Sciences of Ukraine
Ukraine, 03022, Kyiv, Vasylykivska str., 22

MOLECULAR-GENETIC METHODS FOR DIAGNOSTICS OF ACUTE LEUKEMIA

Aims. Acute leukemia - heterogeneous group of diseases characterized by the rapid growth of abnormal uncontrolled proliferation of hematopoietic stem cells or progenitor cells. The definition of specific cytogenetic-molecular abnormalities is important both for diagnosis and for treatment. **Methods.** Fusion genes *bcr-abl1*, *mll/af4* and *mll/af9* was detected by nested RT-PCR. **Results.** Samples of blood of patients with different type acute leukemia were analyzed. A case of simultaneous detection fusion genes p210 *bcr-abl1*, p190 *bcr-abl1* and *mll/af4* was detected. **Conclusions.** The proposed method for detection of the fusion genes *mll/af4* and *mll/af9* allows for molecular genetic differential diagnosis of acute leukemia.

Key words: acute leukemia, PCR, fusion genes *mll/af4* *mll/af9*, diagnostics.

ЗУЕВА М.И.¹, ПАРФЁНОВА Д.О.², АТРАМЕНТОВА Л.А.²

¹ ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины»
Украина, 61057, Харьков, ул. Чернышевская, 7/9

² Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

Украина, 61022, Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: atramentova@yandex.ru, gakkerell@gmail.com

ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ И ИНСЕРЦИОННО-ДЕЛЕЦИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА FLG ЧЕЛОВЕКА ПРИ КОЖНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Ген FLG человека, интенсивно изучаемый в связи с кожными болезнями, локализован на длинном плече первой хромосомы (1q21.3) [9]. Ген включает три экзона и кодирует профилагрин – белок-предшественник филагрина (FLG – филамент-агрегирующий белок). Профилагрин входит в состав кератогиалиновых гранул кератиноцитов в гранулярном слое эпителия и выполняет одну из ключевых функций в дифференцировке кератиноцитов и превращении их в ороговевшие чешуйки. Профилагрин разрезается протеазами на мономеры филагрина, которые связываются с цитоскелетом кератиноцитов и участвуют в формировании кожного барьера. Распадаясь на гидрофильные аминокислоты, филагрин участвует в поддержании водного баланса кожи [9]. Мутации с потерей функции гена FLG, терминируя экспрессию профилагрина, ослабляют барьерную функцию кожи, делают её

более чувствительной к неблагоприятным факторам среды и подверженной ихтиозу, экземе, атопическому дерматиту и другим аллергодерматозам [9]. Наиболее изученные мутации гена FLG – 2282del4 и R501X связаны с третьим экзоном. Мутация 2282del4 представляет собой четырёхнуклеотидную делецию, сдвигающую рамку считывания. Мутация R501X (транзигция 1501C/T) приводит к появлению стоп-кодона [9, 14]. В разных популяциях эти мутации проявляют неодинаковую ассоциацию с кожными заболеваниями [14], что вообще характерно для заболеваний мультифакториальной природы.

Цель данной статьи – изложить результаты поиска ассоциаций однонуклеотидного (R501X) и инсерционно-делеционного (2282del4) полиморфизма гена FLG с дерматозами, распространёнными в Харьковской области.

Объекты и методы исследования.

В исследовании приняли участие 610 жителей Харькова и Харьковской области. Все обследованные (332 женщины и 278 мужчин) украинцы и русские. Это больные в возрасте 16–84 лет, находившиеся на лечении в ГУ «Институт дерматологии и венерологии НАМН Украины» (ИДВ). Среди них 51 больной атопическим дерматитом, 45 больных истинной экземой, 47 больных микробной экземой, 171 больной псориазом, 37 больных псориазическим артритом, 91 больной ограниченной склеродермией, 37 больных хронической красной волчанкой, 35 больных микозом стоп и онихомикозом. Контрольную группу составили 96 человек в возрасте 16–80 лет. Образцы их крови собраны в Харьковском областном центре службы крови. ДНК выделена фенольным методом из лейкоцитов периферической крови [3]. ПЦР двух фрагментов гена FLG [7] проведена на амплификаторе «Терцик» (Россия) при объёме амплификационной смеси 30 мкл. Ампликон FLG с мутацией R501X имеет длину 312 п.н., длина ампликона с мутацией с мутацией 2282del4 составляет 811 п.н. Продукты амплификации определены по

данным электрофореза в 1 % агарозном геле. Ампликон FLG R501X обработан рестриктазой Hin1III (NlaIII), ампликон FLG 2282del4 – рестриктазой AclI (DraIII) (Fermentas, Литва). Рестрикция проведена при 37°C в течение ночи. Для определения молекулярной массы фрагментов ДНК использованы стандартные маркеры молекулярного веса (100–1500 п.н.). Генотипы определены по результатам электрофореза продуктов рестрикции в 3 % агарозном геле. Частоты аллелей в сравниваемых группах рассчитаны по данным о числе генотипов. Частоты мутаций в населении вычислены методом среднего взвешенного [2] с использованием данных о распространённости дерматозов в Харьковской области, полученных в статистическом отделе ИДВ. Гипотезы о равенстве распределений генотипов и аллелей в сравниваемых группах проверены с помощью критерия χ^2 с поправкой Йейтса. Сравнение долей выполнено с помощью ф-трансформации и критерия F. Рассчитано отношение шансов OR (odds ratio) с 95%-ным доверительным интервалом [5]. Проверка статистических гипотез проведена на уровне значимости

0,05 с поправкой Бонферрони [1]. Рассчитаны показатели чувствительности, специфичности,

прогностической ценности положительного и отрицательного результата [6].

Результаты и обсуждение.

У изученного населения частоты мутаций гена FLG (pR501X = 0,010, p2282del4 = 0,005) сопоставимы с данными для европейцев и американцев европейского происхождения (табл. 1). Это сходство может указывать на аналогии в системе генетической подверженности исследованных дерматозов, что даёт возможность использовать в прогностической медицине показатели, полученные на популяциях с похожим ге-

нофондом и условиями среды. Пока нет объяснения, почему мутации R501X и 2282del4 больше распространены в европейских популяциях, а не в азиатских. Выдвигаемые гипотезы [9] базируются на климато-географических особенностях регионов и дифференциальной адаптивной ценности генотипов, но доказательства этого ещё не получены.

Таблица 1. Частоты мутаций R501X и 2282del4 гена FLG

Этническая группа	n	p _{R501X}	p _{2282del4}
Белые американцы [11]	157	0,013	0,016
Афроамериканцы [11]	447	0,012	0,023
Ирландцы [8]	736	0,013	0,013
Шотландцы [12]	1008	0,030	0,019
Британцы [15]	1463	0,029	0,017
Французы [4]	102	0,025	0,010
Немцы [10]	319	0,008	0,017
Итальянцы [13]	210	<0,001	0,000
Индийцы [7]	111	<0,001	0,014
Японцы [16]	156	<0,001	<0,001
Китайцы [7]	49	<0,001	<0,001
Североафриканцы [7]	124	<0,001	<0,001

Примечания. n – количество обследованных, p – частота аллеля.

В исследованных нами выборках каждая мутация в большинстве случаев была в гетерозиготном состоянии. Носителем мутации R501X были два здоровых человека (2,1 %), три больных псориазом (1,8 %), три больных истинной экземой (6,7 %), два больных микробной экземой (4,3%), два больных atopическим дерматитом (3,9 %) и два больных с микозами и ониомикозами (5,7 %). Мутация 2282del4 обнаружена у одного здорового (1 %), 13 больных atopическим дерматитом (25,5 %), девяти больных истинной (20 %) и шести больных микробной экземой (12,8 %). У единственного гомозиготного носителя мутации 2282del4 – мужчины 45 лет atopический дерматит имел самые тяжёлые проявления.

Показатель OR свидетельствует, что унаследование делеции FLG 2282del4 повышает вероятность заболевания atopическим дерматитом и экземой в десятки раз по сравнению со среднепопуляционным значением (табл. 2). Генетические специфичности, ассоциированные с заболеваниями, могут рассматриваться в качестве маркёров соответствующей наследственной

предрасположенности и использоваться в прогностической медицине. Расчёты показали, что использование делеции как маркёра наследственной предрасположенности к изученным кожным заболеваниям имеет низкую чувствительность, выявляя только 13–23 % людей с наследственной предрасположенностью (табл. 2). Невысокая чувствительность метода объясняется тем, что все представленные в данной работе дерматозы относятся к мультифакториальным заболеваниям и зависят от множества генетических и средовых факторов. Об этом, в частности, свидетельствует особенно низкая чувствительность метода в отношении микробной экземы (13 %). Метод высоко специфичен: отсутствие мутации указывает на принадлежность к группе пониженного риска с вероятностью 99 %. Низкая чувствительность метода не оправдывает его использование в скрининговых программах. В то же он может быть полезными при индивидуальном генетическом консультировании. При наличии мутации FLG 2282del4 с вероятностью около 90 % индивид входит в группу повышенного риска, а при её отсутствии

с уверенностью 70 % можно заявлять об отсутствии у него наследственной предрасположенности к кожным заболеваниям (табл. 2).

Таблица 2. Генетико-прогностическое значение мутаций FLG R501X и 2282del4 для статистически значимых ассоциаций

Группа, заболевание	n	p _{R501X}	p _{2282del4}	OR 2282del4	Чув. 2282del4	Спец. 2282del4	Прог. ценность	
							пол.	отр.
Контроль	96	0,010	0,005					
Атопич. дерматит	51	0,019	0,127*	32,5	23,5	99,0	92,3	70,9
Истинная экзема	45	0,033	0,100*	23,8	20,0	99,0	90,0	72,5
Микробная экзема	47	0,021	0,063*	13,9	12,8	99,0	85,7	69,8
Псориаз	171	0,008	0,003					
Псориатич. артрит	37	0,000	0,000					
Склеродермия	91	0,000	0,000					
Красная волчанка	37	0,000	0,000					
Микоз и онихомикоз	35	0,029	0,000					

Примечания: n – количество обследованных, p – частоты мутантных аллелей, OR – отношение шансов,

* – отличие от контроля $p < 0,05$, Чув. – чувствительность в %, Спец. – специфичность в %, Прог. ценность – прогностическая ценность в %, пол. – положительный результат, отр. – отрицательный результат.

Выводы

Мутация с потерей функции 2282del4 гена FLG повышает риск аллергодерматозов у славянского населения Харьковской области. Гомозиготное носительство этой делеции сопровождается особенно тяжёлым течением заболева-

ния. Тестирование на носительство 2282del4 не целесообразно при скрининге, но оправдано для индивидуального генетического прогнозирования на предрасположенность к аллергодерматозам.

Литература

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1998. – 459 с.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы геной инженерии. Молекулярное клонирование: Пер. с англ. – М.: Мир, 1984. – 480 с.
4. Hubiche T. et al. Analysis of SPINK 5, KLK 7 and FLG genotypes in a French atopic dermatitis cohort // Act. Derm. Venerol. – 2007. – Vol. 87, №6. – P. 499–505.
5. Armitage P., Berry G. Statistical Methods in Medical Research. – 3rd ed. Blackwell Scientific Publications. London, 1994. – 620 p.
6. Banerjee A. Medical Statistics Made Clear: An Introduction to Basic Concepts / London: Royal Society of Medicine Press, 2003. – 137 p.
7. Palmer C.N., Irvine A.D., Terron-Kwiatkowski A., Zhao Y. Common loss-of-function variants of the epidermal barrier protein filaggrin are a major predisposing factor for atopic dermatitis // Nat. Genet. – 2006. – Vol 38, №2. – P. 441–446.
8. Sandilands A. et al. Comprehensive analysis of the gene encoding filaggrin uncovers prevalent and rare mutations in ichthyosis vulgaris and atopic eczema // Nat Genet. – 2007. – Vol. 39. – P. 650–654.
9. Sandilands A., Sutherland C., Irvine A.D., McLean W.H. Filaggrin in the frontline: role in skin barrier function and disease // J Cell Sci., 2009. – Vol. 122, №9. – P. 1285–1294.
10. Marenholz C. et al. Filaggrin loss-of-function mutations predispose to phenotypes involved in the atopic march // J. of Allergy and Clinical Immunology. – 2006. – Vol. 118, №4. – P. 866–871.
11. Pei-Song G. et al Filaggrin mutations that confer risk of atopic dermatitis confer greater risk for eczema herpeticum // The Journal of Allergy and Clinical Immunology. – Vol. 124, Issue 3. – 2009. – P. 507–513.
12. Palmer C. et al. Filaggrin null mutations are associated with increased asthma severity in children and young adults // J Allergy Clin Immunol. – 2007. – Vol. 120. – P. 64–68.
13. Giardina E, Paolillo N, Sinibaldi C, Novelli G. Giardina E. R501X and 2282del4 filaggrin mutations do not confer susceptibility to psoriasis and atopic dermatitis in Italian patients // Dermatology. – 2008. – Vol. 216. – P. 83–84.
14. Smith F.J.D, Irvine A.D., Terron-Kwiatkowski A. et al. Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris // Nat. Genet., 2006. – Vol. 38, №2. – P. 337–342.
15. Barker J. et al Null mutations in the filaggrin gene (FLG) determine major susceptibility to early-onset atopic dermatitis that persists into adulthood // J. Invest Dermatol. – 2007. – Vol. 127, N3. – P.564–567.

16. Nomura T. et al Unique mutations in the filaggrin gene in Japanese patients with ichthyosis vulgaris and atopic dermatitis // J Allergy Clin Immunol. – 2007. – Vol. 119. – P. 434–440.

ZUEVA M.I.¹, PARFYONOVA D.O.², ATRAMENTOVA L.A.²

¹ State Enterprise «Institute of Dermatology and Venereology of the National Academy of Medical Sciences in Ukraine»

Ukraine, 61022, Kharkov, Chernishevskaya str., 7/9

² V.N.Karazin Kharkov National University

Ukraine, 61022, Kharkov, Svoboda sq., 4, e-mail: atramentova@yandex.ru, gakkerell@gmail.com

SNP AND INSERTION-DELETION POLYMORPHISM OF THE FLG HUMAN GENE FOR SKIN DISEASES

Aims. Mutations in FLG-2282del4 and R501X associated with the third exon variously relate to skin diseases. **Methods.** The detection of mutations was performed by PCR-RFLP. **Results.** The FLG mutation frequency in the Slavic population of the Kharkov region is pR501X = 0,010, p2282del4 = 0,005. Inheritance of FLG 2282del4 deletion increases probability of atopic dermatitis and eczema by ten times. This deletion can be considered as a marker of the appropriate genetic predisposition and used in predictive medicine. The sensitivity is 13–23 % and the specificity is 99 %. Prognostic significance of a positive result is 86–92 %, of negative result is 70–73 %. **Conclusions.** FLG-2282del4 mutation increases the risk of allergic dermatitis and homozygous individuals are exposed to particularly severe course of the disease. Carrier testing this deletion is useful when predicting an individual's genetic predisposition to allergic.

Key words: FLG gene, 2282del4, R501X, skin diseases.

КАРПОВА І.С., ЛИЛО В.В., КОЦАРЕНКО К.В., РУБАН Т.П., МАЦЕВИЧ Л.Л. ЛУКАШ Л.Л.

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Україна, 03680, м. Київ, вул. Заболотного, 150, e-mail: lukash@imbg.org.ua

ЛЕКТИН *PHASEOLUS VULGARIS* (РНА) ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ МОДУЛЯТОР ЗАХИСНИХ ТА РЕПАРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ В КЛІТИНІ

На сучасному етапі з'являється все більше свідчень, що онкологічним та іншим хворобам, асоційованим з мутаціями, можна значною мірою запобігти за допомогою речовин з протекторними та антимуtagenними властивостями або факторів (фармакологічних, дієтичних), здатних модулювати ефективність природних захисних та репаративних процесів [1]. Перспективними в цьому відношенні є лектини – мембраноактивні вуглеводзв'язувальні білки, притаманні всім живим системам, де відіграють фундаментальну роль в процесах вуглевод-білкового розпізнавання. Лектини вирізняються широким спектром біологічної дії, і у рослинних та тваринних організмів вони є компонентами захисних систем [2]. Лектинам притаманна структурно-функціональна гетерогенність. Це дозволяє висловити припущення, що ізоформи лектину, які

відрізняються за фізико-хімічними і біологічними характеристиками, можуть здійснювати регуляторну дію шляхом впливу на певні мішені різними (автономними або альтернативними) шляхами.

Раніше [3, 4, 5] для низки лектинів тваринного і рослинного походження було показано модулюючий ефект на експресію гена репаративного ензима Об-метилгуанін-ДНК метилтрансферази (MGMT). Від рівня активності цього протеїна залежить ефективність хіміотерапії онкологічних захворювань, що визначає актуальність пошуку речовин, здатних регулювати експресію гена MGMT.

Мета роботи полягала в оптимізації умов обробки клітин людини препаратами лектину РНА і його ізоформ для дослідження їх модулюючого впливу на експресію гена MGMT.

Матеріали і методи

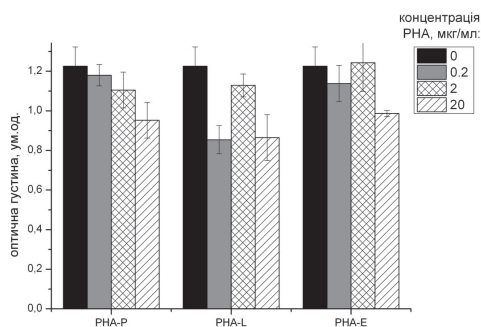
За об'єкт дослідження правили 2 лінії клітин: 4BL – лінія фібробластоподібних клітин, отриманих з периферійної крові здорового доно-

ра; Нер-2 – лінія клітин карциноми епітелію гортані. Клітини вирощували на стандартному ростовому середовищі ДМЕМ з додаванням 10 %

ембріональної сироватки і антибіотиків пеніциліну і стрептоміцину. Обробку клітин лектинами в різних концентраціях (0,02; 0,2; 2; 20 мкг/мл) проводили у безсироватковому середовищі протягом 24 год. Використовували комерційні препарати лектинів фірми «ЛЕКТИНОТЕСТ» (Львів, Україна): сумарний препарат РНА-Р (суміш ізоформ) та дві його основні гомотетрамерні ізоформи – лейкоцитарна (РНА-Л) і еритроцитарна (РНА-Е). Оцінку цитотоксичності препаратів проводили за допомогою мікрокультурального метаболічного МТТ-тесту при довжині хвилі 570 нм [6, 7]. Непрямим критерієм цитотоксичності є зміна метаболічної активності клітин за здатністю здійснювати редукцію тетразолієвої солі формазану. Для вивчення морфологічних особливостей клітин застосовували світлову мікроскопію з фарбуванням препаратів за Гімза–Романовським. Ідентифікацію експресії білка MGMT у клітинному екстракті проводили за допомогою Вестерн блот аналізу згідно [8]. Контроль рівномірності нанесення матеріалу здійснювали шляхом денситометрії гібридизаційної мембрани після її обробки барвником [9]. Для ідентифікації MGMT в клітинному екстракті застосовували моноклональні антитіла проти MGMT виробництва «Novus Biologicals, Littleton, Co» (США). Як вторинні, застосовували видоспецифічні антитіла, кон'юговані з пероксидазою хрому («Jackson ImmunoResearch», США). Всі процедури проводили згідно методичних вказівок фірми-виробника.

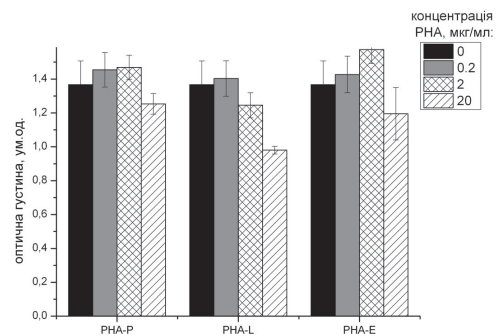
Результати та обговорення

За результатами МТТ аналізу всі культури клітин після обробки лектинами в найбільшій із застосованих концентрацій (20 мкг/мл) виявили тенденцію до зниження кількості метаболічно активних клітин в межах від 10 до 30 % в такому порядку: РНА-Л > РНА-Р ≈ РНА-Е (рис. 1, а, б).



а)

За меншої концентрації (2 мкг/мл) проявилась тенденція до різноспрямованої дії ізоформ, більш вираженої для культури Нер-2, де препарат РНА-Л зменшував, а РНА-Е збільшував кількість метаболічно активних клітин.



б)

Рис. 1. Оцінка цитотоксичності лектину *Ph. vulgaris* (РНА) та його ізоформ за допомогою МТТ-тесту на лініях клітин: а – 4BL; б – Нер-2

Морфологічний аналіз препаратів клітин, оброблених лектинами, виявив зміни розмірів і форми клітин, утворення ними груп і конгломератів сферичної форми, наявність мікроядер, ядерець, вакуолей, ознак зміни проникності мембрани тощо (рис. 2, 3). Частота і спектр видимих змін залежали від клітинної лінії, типу і концентрації препарату. При цьому дія ізоформ мала певні відмінності. Вплив РНА-Л на клітини 4BL був більш вираженим і відрізнявся масовим формуванням ядерець (рис. 2, б), що може свідчити на користь посиленого синтезу білків. За дії ізоформи РНА-Е частіше утворювались агрегати і значно підвищувалась частота клітин з конденсованим ядром (каріопікноз) (рис. 2, д).

Руйнування ядерної і клітинної мембрани, характерні для останніх етапів апоптозу, особ-

ливо помітне в культурі ракових клітин Нер-2 за дії препарату РНА-Л (рис. 2, г, 3, г). Однак, такі зміни морфологічних характеристик не спостерігались у випадку ізоформи РНА-Е (рис. 3, д).

Таким чином, ізоформи лектину *Ph. vulgaris* в діапазоні концентрацій 0,2–20 мкг/мл здатні по-різному впливати на морфологію клітин людини в культурі (лінії 4BL і Нер-2) внаслідок втручання у метаболічні процеси. Відмінна реакція клітин на додавання різних препаратів лектинів дає підстави для подальшого порівняльного дослідження дії РНА і його ізоформ як потенційних модуляторів експресії гена MGMT. Для відпрацювання методики по індукції експресії білка MGMT за допомогою досліджуваних лектинів було обрано сумарний (інтегральний) препарат РНА-Р, який містить

всі п'ять ізоформ даного лектину в різних концентраціях (0,2; 2; 20 мкг/мл) та препарати окремих ізоформ РНА-L і РНА-E в найбільшій

концентрації – 20 мкг/мл. Об'єктом дослідження слугувала клітина лінія 4BL.

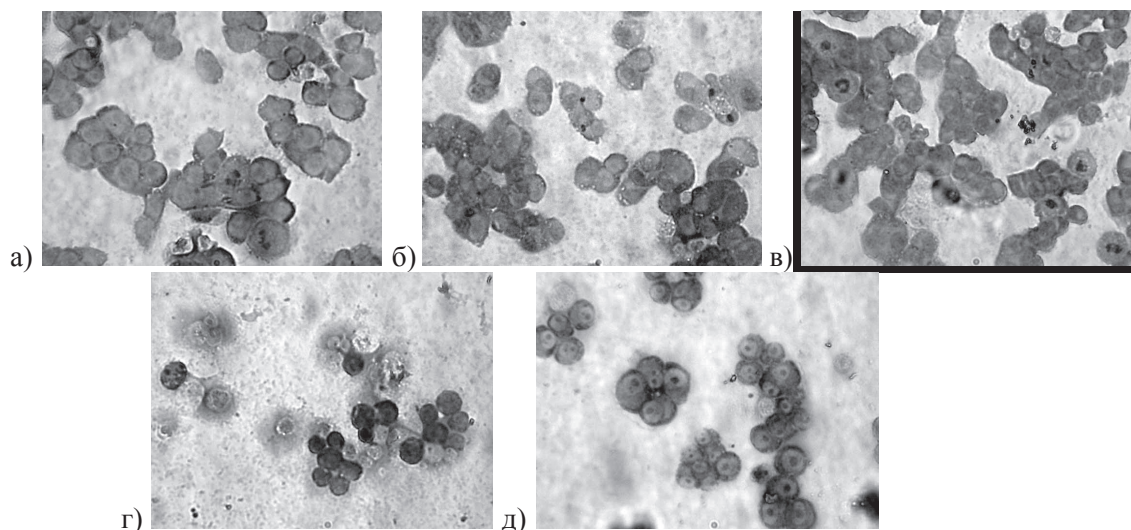


Рис. 2. Морфологія клітин 4BL: (а) – інтактна культура; (б) – обробка препаратом РНА-L (2 мкг/мл); (в) – обробка препаратом РНА-E (2 мкг/мл), (г) – обробка препаратом РНА-L (20 мкг/мл); (д) – обробка препаратом РНА-E (20 мкг/мл)

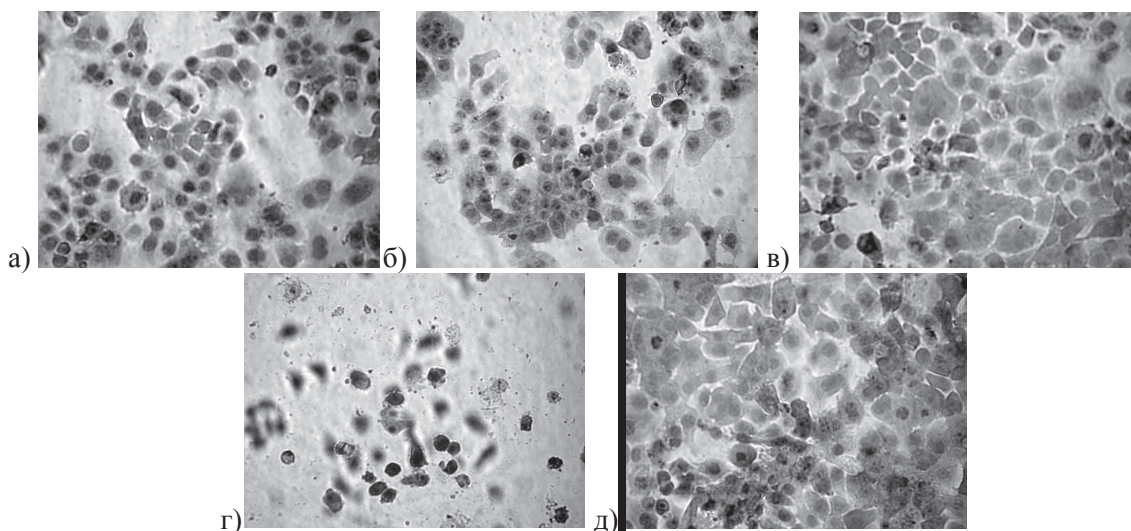


Рис. 3. Морфологія клітин Her-2: (а) – інтактна культура; (б) – обробка препаратом РНА-L (2 мкг/мл); (в) – обробка препаратом РНА-E (2 мкг/мл); (г) – обробка препаратом РНА-L (20 мкг/мл); (д) – обробка препаратом РНА-E (20 мкг/мл)

На рис. 4 представлено результати денситометричного аналізу сигналу при Вестерн блот гібридизації білкових екстрактів, одержаних з клітин людини в культурі (лінія 4BL), оброблених різними концентраціями РНА-Р, а також препаратами ізоформ РНА-L РНА-E в концентрації 20 мкг/мл. Контролем були клітини, які не контактували з лектинами.

Згідно даних, представлених на рис. 4, усі досліджені препарати лектинів виявили здатність впливати на рівень експресії білка з моле-

кулярною масою 48 кДа в клітинах лінії 4BL. Звичайну форму репаративного ензиму MGMT (24 кДа) в жодному варіанті досліджу, а також у контролі зареєстровано не було, що, як раніше було встановлено В.В. Лило із співавторами, є характерною ознакою даної лінії.

За найбільшої (20 мкг/мл) концентрації лектини виявили різноспрямований вплив на вихід продукту 48 кДа: для сумарного препарату РНА-Р рівень експресії білка порівняно з необробленим контролем знижувався (на 17 %), а у

випадку обох ізоформ – РНА-L і РНА-E спостерігалася стимуляція експресії (на 58 % та 63 %, відповідно).

Концентраційна залежність рівня експресії білка 48 кДа, одержана для препарату РНА-Р, мала нелінійний характер, де спостерігався пригнічуючий ефект більшої (20 мкг/мл) і стимулююча дія менших доз, серед яких найбільш ефективною виявилась концентрація 2,0 мкг/мл. Перевищення контрольного рівня білка, зареєс-

троване за допомогою Вестерн блот аналізу, складало 72 %.

Враховуючи, що біологічні ефекти лектинів опосередковуються сигнальними мережами, отримані результати є новим підходом до подальшого пошуку партнерів, які беруть участь у реалізації модулюючої дії вуглеводзв'язувальних білків на рівень експресії гена MGMT.

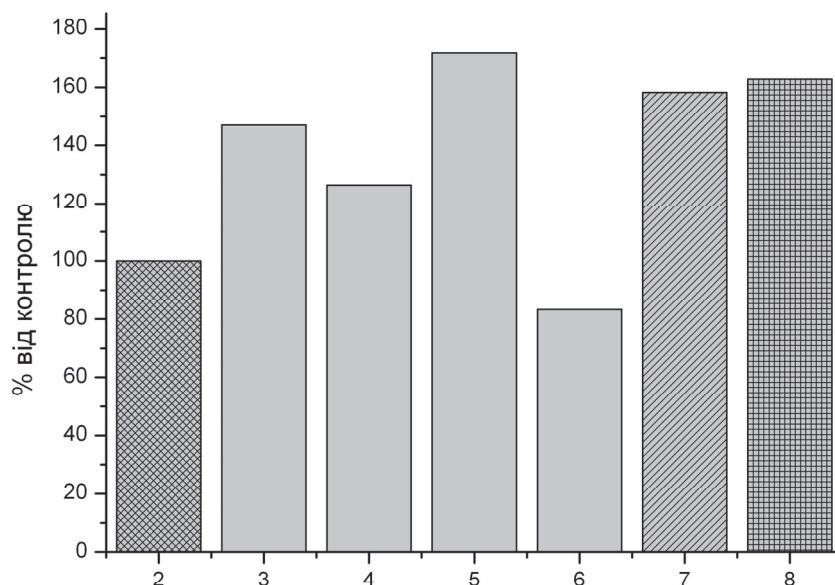


Рис. 4. Ідентифікація рівня експресії білка MGMT в культурі 4BL *in vitro*. Дані денситометрії сигналу (Вестерн блот аналіз) після обробки препаратами лектинів в різних концентраціях, мкг/мл. На гістограмах представлено результати денситометрії сигналів: 2 – контроль; 3 – РНА-Р (20,0); 4 – РНА-Р (2,0); 5 – РНА-Р (0,2); 6 – РНА-Р (0,02); 7 – РНА-L (20,0); 8 – РНА-E (20,0)

Висновки

Оптимізовано умови обробки клітин людини препаратами лектину РНА і його ізоформ. За концентрації (2 мкг/мл) проявилась різноспрямована дія ізоформ, де препарат РНА-L зменшував, а РНА-E збільшував кількість метаболічно активних клітин.

Показано ефект РНА і його ізоформ на

експресію модифікованої форми (48 кДа) репаративного ензиму MGMT.

Отримані дані дають підстави для подальших досліджень з метою розкриття шляхів і механізмів дії лектинів на спадкову мінливість і репарацію в клітинній системі захисту геному.

Література

1. Thun M.J., DeLancey J.O., Center M.M., Jemal A., Ward E.M. The global burden of cancer: priorities for prevention // *Carcinogenesis*. – 2010. – Vol. 61. – P. 100–110.
2. Лахтин В.М., Афанасьев С.С., Алешкин В.А., Несвижский Ю.В., Лахтин М.В., Шубин В.В., Черепанова Ю.В., Поспелова В.В. Классификация лектинов как универсальных регуляторных молекул биологических систем // *Вестник РАМН*. – 2009. №3. – С. 36–43.
3. Lylo V.V., Piven' O.O., Serebryakova K.V., Macewicz L.L., Lukash L.L. The influence of lectins on some repair processes in mammalian cells *in vitro* // *The Ukr. Biochem. Journal*. – 2008. – Vol. 80. – P. 60–65.
4. Gerson S.L., Trey J.E., Miller K. Potentiation of nitrosourea cytotoxicity in human leukemic cells by inactivation

- of O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase // *Cancer Res.* – 1988. – Vol. 48. – P. 1521–1527.
5. Trey J.E., Gerson S.L.. The role of O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase in limiting nitrosourea-induced sister chromatid exchanges in proliferating human lymphocytes // *Cancer Res.* – 1989. – Vol. 49. – P. 1899–1903.
 6. Twentyman P.R., Luscombe M.A. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. // *Br. J. Cancer.* – 1987. – Vol. 56. – P. 279–285.
 7. Фрешни Р.Ян. Культура животных клеток. Практическое руководство. – Москва: Бином. Лаборатория знаний, 2010. – 692 с.
 8. Лыло В.В., Мацевич Л.Л., Коцаренко Е.В., Бабенко Л.А., Корнелюк А.И., Сухорада Е.М., Лукаш Л.Л. Индукция экспрессии гена репаративного фермента O6-метилгуанин-ДНК метилтрансферазы под влиянием цитокина ЕМАР II в клетках человека *in vitro* // *Цитология и генетика.* – 2011. – Т. 45. – С. 53–60.
 9. Aldridge G.M., Podrebarac D.M., Greenough W.T., Weiler I.J. The use of total protein stains as loading controls: an alternative to high-abundance single-protein controls in semi-quantitative immunoblotting. // *J. Neurosci. Methods.* – 2008. – Vol. 172. – P. 250–254.

KARPOVA I.S., LYLO V.V., KOTSARENKO K.V., RUBAN T.P., MATSEVYCH L.L., LUKASH L.L.

*Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine
Ukraine, 03680, Kyiv, Zabolotnoho str., 150, e-mail: lukash@imbg.org.ua*

LECTIN OF *PHASEOLUS VULGARIS* (PHA) AS A POTENTIAL MODULATOR OF PROTECTIVE AND REPAIR PROCESSES IN CELL

Aims. Optimization of processing conditions of human cells with preparations of PHA and its isoforms to study their modulating effect on the *MGMT* gene expression. **Methods.** Object of study: standard (Hep-2 – laryngeal cancer) and obtained in our laboratory (4BL – cells derived from peripheral blood) human cell lines. Cytotoxicity was assessed with MTT assay at a wavelength of 570 nm. For light microscopy the preparations were stained according to Giemsa-Romanovsky. Identification of *MGMT* protein in cell extracts was performed by using Western blot analysis. For protein loading control there was used the densitometry control of the total amount of protein transferred to the membrane (Scion Image program). **Results.** According to the results of MTT analysis all lectin preparations at a concentration of 20 mkg/ml exhibited a weak cytotoxic effect. At a concentration of 2 mkg/ml isoforms demonstrated the opposite directed action. Morphological analysis revealed some of action features of every lectin product on the cell population. Western blot analysis showed that all studied lectin preparations affected the level of expression of the *MGMT* modified form (48 kDa) in the 4BL cell line. The concentration dependence (obtained for PHA-P) was of nonlinear character. At a larger concentration (20 mkg/ml) there was observed the inhibitory effect, which was replaced by a stimulating action of a lower dose (2 mkg/ml). **Conclusions.** Conditions of human cell treatment *in vitro* with PHA and its isoform preparations have been optimized. It was found that at the concentration 2 mkg/ml isoforms exhibit opposite directed effects: PHA-L decreases and PHA-E increases the amount of metabolically active cells. Both PHA and its isoforms were shown to modulate the expression of repair enzyme *MGMT* at the level of the modified (48 kDa) protein form. The data obtained serve as a starting point for further research of pathways and mechanisms of lectin action on DNA repair processes as a components of genome protection system.

Key words: lectin, PHA, isoforms, O6-methylguanine-DNA methyltransferase, cell viability.

КОМИССАРОВА С.М.¹, ЧАКОВА Н.Н.², КРУПНОВА Э.В.², МИХАЛЕНКО Е.П.², ЧЕБОТАРЕВА Н.В.², НИЯЗОВА С.С.²

¹ *Республиканский научно-практический центр «Кардиология»*

² *Институт генетики и цитологии НАН Беларуси*

Беларусь, 220036, г. Минск, ул. Р. Люксембург, 110, e-mail: kom_svet@mail.ru

ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ БЛОКАТОРАМИ РЕЦЕПТОРОВ АНГИОТЕНЗИНА II БОЛЬНЫХ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ

В настоящее время лечение больных ГКМП носит в основном симптоматический характер. Классическая терапия в-

адrenoблокаторами хоть и вызывает клиническое улучшение, но не улучшает прогноз и по данным функциональных методов исследования

не сопровождается регрессом гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ). Встает вопрос о поиске новых, патогенетически обоснованных путей воздействия на гипертрофию миокарда при ГКМП [1]. Известно, что БРА высоко эффективны в плане обратного развития ГЛЖ при сердечно-сосудистых заболеваниях [2]. Это позволяет надеяться на эффективность БРА в терапии ГКМП [3]. Однако, можно предположить, что эффективность лечения больных ГКМП, как и больных АГ, с использованием БРА, будет различной. Одной из причин такого проявления может быть аллельный полиморфизм генов, ко-

дирующих белки РААС. Прежде всего, это относится к генам ACE и AGTR1, кодирующих ангиотензинпревращающий фермент (АПФ) [4] и рецептор к ангиотензину II первого типа (АТ-II тип1) [5], которые непосредственно или опосредованно взаимодействуют с данными лекарственными препаратами.

Целью настоящего исследования является изучение влияния полиморфизма генов, белки РААС (I/D полиморфизма гена ACE и A1188C полиморфизм гена AGTR1 на эффективность терапии БРА (лозартан) пациентов с ГКМП.

Материалы и методы

В исследование было включено 73 пациента с ГКМП (54 мужчины и 19 женщин, средний возраст $46,7 \pm 15,7$ года), у которых диагноз был верифицирован на основании наличия критериев Международного комитета экспертов по ГКМП [6].

Все пациенты прошли обследование, включающее оценку данных анамнеза, клинической картины заболевания, физикальное обследование, измерение офисного АД, а также инструментальные методы диагностики: электрокардиография (ЭКГ), суточное мониторирование ЭКГ (СМ ЭКГ) и эхокардиография (ЭхоКГ).

Морфофункциональные параметры сердца оценивали методом ЭхоКГ на аппарате IE-33 фирмы PHILIPS и определяли толщину миокарда межжелудочковой перегородки (ТМЖП) и задней стенки левого желудочка (ТЗСЛЖ), конечный систолический и диастолический размер (КСР и КДР) левого желудочка (ЛЖ), размер левого предсердия (ЛП), наличие обструкции выносящего тракта ЛЖ (ВТЛЖ), индекс массы миокарда (ИММ).

Подбор дозы лозартана (лориста, KRKA, Словения) осуществляли путем медленного титрования с интервалом в 7–10 дней между последующими дозами (25–50–100 мг/сут). Критери-

ем остановки повышения дозы являлось снижение систолического АД менее 90 мм рт.ст.. Базовая терапия включала в-адреноблокаторы (бисопролол) и оставалась неизменной.

У всех пациентов исследовали полиморфизм I/D-полиморфизм в гене ACE и замену A1166C в гене AGTR1 с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ-анализ). Выделение тотальной ДНК из лейкоцитов периферической крови выполняли методом Mathew [7]. ПЦР проводили на амплификаторе MyCycler™ Thermal cycler (BIORAD). Последовательности использованных в работе праймеров и условия ПЦР представлены в таблице 1.

I/D полиморфизм в гене ACE изучали с использованием ПЦР, в ходе которой возможен синтез двух фрагментов, разница между которыми составляет 287 п.н., что соответствует размеру инсерции. Продукты амплификации фракционировали в 1,2 %-ном агарозном геле. Для изучения полиморфизма A1166C амплифицированный фрагмент длиной 428 п.н. подвергали воздействию эндонуклеазы DdeI. Продукты рестрикции фракционировали в 1,5 %-ном горизонтальном агарозном геле (рис. 1).

Таблица 1. Последовательности праймеров и программа проведения

Ген	Последовательность праймера	Программа проведения ПЦР	Размер продукта
ACE	F: 5`ctggagaccactcccatcctttct3`	94°C – 4 мин, [94°C – 30 с, 58°C – 35 с, 72°C – 1 мин] Ч Ч 30 циклов, 72°C – 7 мин	200 п.н. или 487 п.н.
	R: 5`gatgtggccatcacattcgtcagat3`		
AGTRI	F: 5`ttccccaagaagccaaatcccac3`	94°C – 7 мин, [94°C – 40 с, 64°C – 1 мин, 72°C – 1 мин] Ч Ч 35 циклов, 72°C – 5 мин	428 п.н.
	R: 5`caggctagggagattgcatttctgtcag3`		

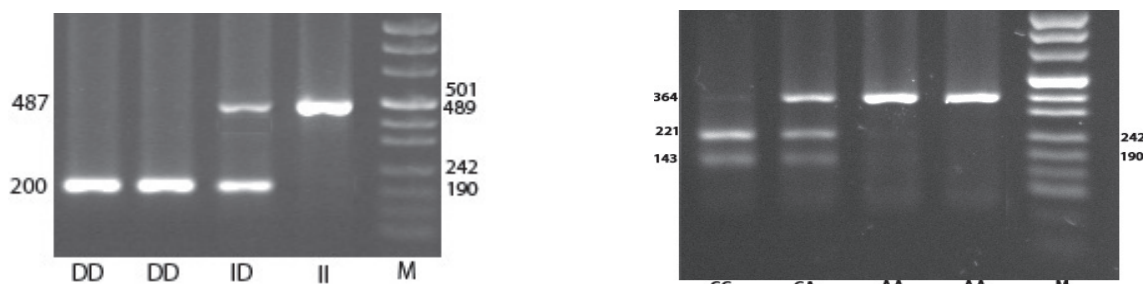


Рис.1. Электрофореграмма фрагментов амплификации полиморфных аллелей гена *ACE* и *AGTR1*

Результаты и обсуждение

В целом, на фоне лечения лозартаном через 12 месяцев у пациентов с ГКМП отмечался положительный клинический эффект (табл. 2). Было достигнуто достоверное снижение тяжести клинических проявлений, в частности ФК СН (с

1,9±0,13 до 1,5±0,12, $p<0,05$), снижение уровня артериального давления (САД и ДАД). При этом значимой динамики эхокардиографических показателей, характеризующих ГЛЖ, таких как ТЗС, ТМЖП, ИММ не наблюдалось.

Таблица 2. Клинические и морфофункциональные параметры у больных ГКМП до и после лечения лозартаном

Показатели	Исходно	Через 12 мес.	Значение p
ФК ХСН	1,9±0,13	1,5±0,12	p=0,05
САД, мм рт.ст.	142,1±17,4	128,3±12,3	p=0,001
ДАД, мм рт.ст.	86,1±10,3	80,5±6,1	p=0,0001
ЛП, мм	44,4±0,94	43,8±0,89	p=0,66
КДД, мм	49,9±0,86	49,5±0,87	p=0,84
КСД, мм	30,0±0,93	30,5±0,91	p=0,49
ГД ВТЛЖ, мм рт.ст.	21,1±1,49	23,6±1,48	p=0,08
ТМЖП, мм	20,9±3,9	20,1±4,2	p=0,36
ТЗС, мм	13,3±2,7	13,2±2,0	p=0,28
ИММ, г/м ²	189,5±61,7	181,7±61,3	p=0,89

Однако терапия лозартаном была неодинаково эффективна в плане регресса гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ). Так, резистентная к терапии ГЛЖ зарегистрирована у 33 (47,1 %) пациентов, при этом у 20 (28,6 %) пациентов не выявлено динамики ИММ в ходе терапии, прогрессирование ГЛЖ (увеличение ИММ) зарегистрировано у 13 (18,6 %) пациентов. Регресс ГЛЖ (динамика ИММ>10 % от исходного значения) наблюдался у 15 (21,4 %) пациентов, у 18 (25,7 %) регистрировался регресс ГЛЖ, не превышающий 10 % от исходного уровня, что трактовалось как положительный антигипертрофический эффект.

Поскольку различную эффективность лечения БРА связывают с генетическим полиморфизмом генов, кодирующих белки РААС (*AGTR1* и *ACE*), участвующих в фармакодинамике БРА, у всех обследованных пациентов бы-

ли определены аллельные варианты этих генов.

Распределение полиморфизма A1166C *AGTR1* у 73 пациентов с ГКМП было следующим: генотип AA являлся преобладающим и составлял 49,3 % (36 человек); 43,8 % (32 человека) имели генотип AC и 6,8 % (5 человек) – генотип CC. В результате генотипирования гена *ACE* у больных ГКМП было получено следующее распределение частот генотипов: носителями генотипа DD являлись 34,2 % (25 человек); 37 % (27 человек) имели генотип ID и 28,8 % (21 человек) – генотип II (рис. 2).

Для дальнейшего анализа ввиду небольшого числа пациентов с генотипом CC, они были объединены в группу пациентов с генотипом AC. Результаты лечения в зависимости от полиморфизма *AGTR1* представлены в таблице 3.

Таблица 3. Динамика клинических и функциональных показателей у пациентов ГКМП в зависимости от генотипа *AGTR1*

Показатели	<i>AA</i> (n=36)		Значение p	<i>AC+CC</i> (n=32+5)		Значение p
	Исходно	Через 12 мес.		Исходно	Через 12 мес.	
ФК ХСН	1,9±0,02	1,6±0,01	p=0,28	1,8±0,02	1,8±0,02	p=0,26
САД, мм рт.ст.	141,5±2,64	129,0±2,31	p=0,0002	142,4±2,58	126,1±2,23	p=0,0003
ДАД, мм.рт.ст.	85,1±1,58	80,5±1,26	p=0,009	86,2±1,45	80,3±1,34	p=0,005
ЛП, мм	44,2±0,98	44,1±0,85	p=0,93	44,0±0,84	43,9±0,82	p=0,93
ГД ВТЛЖ, мм.рт.ст.	28,0±2,76	29,8±2,87	p=0,28	24,7±2,35	25,8±2,24	p=0,83
ТМЖП, мм	19,1±0,54	19,7±0,52	p=0,28	22,2±2,2	19,7±9,60	p=0,29
ТЗС, мм	13,6±0,43	13,5±0,42	p=0,86	12,8±0,35	12,7±0,32	p=0,83
ИММ, г/м ²	185,6±7,04	177,1±6,8	p=0,58	182,9±7,21	177,4±6,7	p=0,59

Как видно из таблицы 3, гипотензивный эффект лозартана наблюдался не зависимо от генотипа. При анализе эффективности достижения регресса ГЛЖ в зависимости от генотипа *AGTR1* выявлено, что регресс ГЛЖ (динамика ИММ >10 %) зарегистрирован у 9 (23,7 %) пациентов с генотипом *AA* и у 8 (21,1 %) пациен-

тов с генотипом *AC+CC*; резистентная ГЛЖ выявлена у 17 (47%) пациентов с генотипом *AA* и у 15 (40,5 %) пациентов с генотипом *AC+CC*. Таким образом, как гипотензивный, так и антигипертрофический эффекты лозартана не зависят от генотипа *AGTR1*.

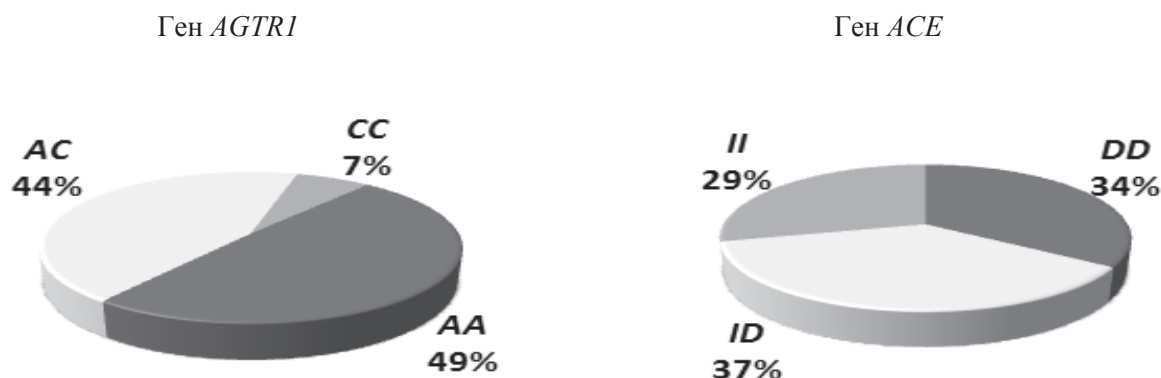


Рис. 2. Распределение генотипов *A1166C*-полиморфизма гена *AGTR1* и *I/D*-полиморфизма гена *ACE* среди пациентов с ГКМП

Результаты лечения в зависимости от полиморфизма *ACE* представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы 4, только у носителей *DD* и *ID* генотипов отмечался наилучший ответ на терапию. Именно у этих пациентов достигается достоверное уменьшение значений ФК ХСН (p=0,05), уменьшение цифр САД (p=0,00015) и ДАД (p=0,01), отмечается тенденция к снижению ИММ (%Д= -3,5 % и %Д= -5,4 %, p<0,08 соответственно), а у носителей генотипа *DD* – уменьшение ТМЖП (%Д=17,3%, p=0,002). У носителей гомозигот *II* статистически значимых изменений клинических и функ-

циональных показателей в ходе лечения не отмечено. При анализе эффективности достижения регресса ГЛЖ в зависимости от генотипа *ACE* выявлено, что значимый регресс ГЛЖ (динамика ИММ >10 %) зарегистрирован у 6 (24 %) пациентов с генотипом *DD* и у 8 (28,6%) пациентов с генотипом *ID*; резистентная ГЛЖ у 13 (52 %) пациентов с генотипом *DD* и у 10 (35,7 %) пациентов с генотипом *ID*, тогда как у пациентов с генотипом *II* в 2 раза чаще наблюдалась резистентная ГЛЖ (15 пациентов, 60 %) и только у 3 (12 %) регистрировался регресс ГЛЖ.

Таблица 4. Динамика клинических и функциональных показателей у пациентов ГКМП в зависимости от *I/D* генотипа *ACE*

Показатели	<i>DD</i> (n=25)		<i>ID</i> (n=27)		<i>II</i> (n=21)	
	Исходно	Через 12 мес.	Исходно	Через 12 мес.	Исходно	Через 12 мес.
ФК ХСН	2,12±0,01	1,52±0,02*	1,82±0,02	1,54±0,01*	1,52±0,01	1,50±0,01
САД, мм рт.ст.	142,2±2,32	129,0±1,67**	145,5±2,42	128,6±1,65**	137,8±1,68	127,2±1,56*
ДАД, мм рт.ст.	85,9±1,65	80,5±1,52*	88,1±1,68	80,0±1,23**	83,5±1,08	81,3±0,98
ЛП, мм	44,0±0,81	43,9±0,83	45,3±0,84	44,7±0,82	43,4±0,81	42,6±0,87
ИММ, г/м ²	195,9±7,89	189,0±6,97	186,4±7,13	176,3±6,67	187,5±7,78	181,9±6,98
ТМЖП, мм	23,7±0,54	19,6±0,52	19,5±0,59	20,1±0,60	20,2±0,62	20,5±0,59
ТЗСЛЖ, мм	14,0±0,49	13,8±0,41	14,0±0,53	13,6±0,51	11,7±0,35	12,3±0,37
ГД ВТЛЖ, мм рт.ст.	19,1±2,56	22,5±2,75	24,5±2,58	27,2±2,78	18,6±2,51	20,2±2,06

Примечания: * – $p < 0,05$ достоверность различий по сравнению с исходными данными; ** – $p < 0,01$ достоверность различий по сравнению с исходными данными.

Интересные результаты получены при анализе комбинаций различных генотипов *AGTR1* и *ACE* в группах больных с различной эффективностью к лечению БРА. Наиболее эффективной терапия БРА в плане уменьшения ГЛЖ оказалась для носителей комбинаций гетерозиготных генотипов *AC(AGTR1)/ID(ACE)* и гомозиготных генотипов *AA(AGTR1)/DD(ACE)*, у которых наблюдался значимый регресс ГЛЖ. При этом у 58,3 % носителей гомозиготных генотипов *AA(AGTR1)/DD(ACE)* выявлена максимальная динамика ИММ ($\% \Delta = 14,4\%$, $p = 0,02$), у остальных 41,7 % пациентов наблюдалось отсутствие динамики ГЛЖ. У носителей же гетерозиготных генотипов *AC(AGTR1)/ID(ACE)* в 87,5 % случаев отмечалась значимая динамика ИММ ($\% \Delta = -12,4$; $p = 0,05$) и только у 12,5 % пациентов наблюдалась резистентная ГЛЖ, то-

гда как у пациентов с комбинацией гомозиготных генотипов *AA(AGTR1)/II(ACE)* в 87,5 % случаев отмечалось отсутствие регресса ГЛЖ, при этом у 75 % носителей этой комбинации наблюдалось прогрессирование ГЛЖ ($\% \Delta = +11,6$, $p = 0,05$).

Таким образом, тестирование комбинаций генотипов позволяет выделить наиболее чувствительных к лечению БРА пациентов с ГКМП, а также группу пациентов, резистентных к терапии, которые нуждаются в дополнительном наблюдении и подборе других препаратов из группы БРА. Поэтому целесообразно проведение генотипирования пациентов до начала терапии, позволяющее при назначении препарата учитывать еще и генетические факторы чувствительности к нему.

Литература

1. Burnier M. Angiotensin II type 1 receptor Blockers // *Circulation*. – 2001. – Vol. 103. – P. 904–912.
2. Kurland L., Melhus H., Karlsson J., et al. Polymorphisms in the angiotensinogen and angiotensin II type I receptor gene are related to change in left ventricular mass during antihypertensive treatment result from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy investigation versus Atenolol (SILVHIA) trial // *J. Hypertens.* – 2002. – Vol. 20, №4. – P. 657–663.
3. Penicka M., Gregor P., Kerekes R., Marek D., Curila K., Krupicka J. The effects of Candesartan on left ventricular hypertrophy and function in nonobstructive hypertrophic cardiomyopathy // *Journal of Molecular Diagnostics*. – 2009. – Vol. 1, №11. – P. 35–41.
4. Van Geel P.P., Pinto Y.M., Voors A.A., et al. Angiotensin II type I receptor A1166C gene polymorphism is associated with an increased response to angiotensin II in human arteries // *Hypertension*. – 2000. – Vol. 35. – P. 717–721.
5. Seferovic P.M. ACE genotypes in patients with hypertrophic cardiomyopathy // *Eur Heart J.* – 1995. – Vol. 16. – P. 124–127.
6. Maron BJ., Towbin JA, Thiene G., et al. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association scientific statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention // *Circulation*. – 2006. – Vol. 113. – P. 1807–1816.
7. Mathew C.C. The isolation of high molecular weight eucaryotic DNA. In Walker JMNJ (ed): *Methods in Molecular Biology*. Clifton // Human Press. – 1984. – Vol. 2, №4. – P. 31–34.

KOMISSAROVA S.M.¹, CHAKOVA N.N.², KRUPNOVA E.V.², MICHALENKO E.P.²,
CHEBOTARYOVA N.V.², NIYAZOVA S.S.²

¹ The Republican and Practical Centre «Cardiology»

² Genetics and Cytology Institute of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk
Belarus, 220036, Minsk, R. Luxemburg str., 110, e-mail: kom_svet@mail.ru

INDIVIDUALIZATION OF ANGIOTENSIN II BETA-BLOCKER TREATMENT IN PATIENTS WITH HYPERTROPHIC CARDIOMYOPATHY

Aims. To assess the influence of gene polymorphism, coding RAAS proteins (I/D gene polymorphism ACE and A1188C gene polymorphism AGTR1) on the effectiveness and safety of ARB therapy (losartan) in patients with HCMP. **Methods.** The study comprised 73 patients with HCMP (54 males and 19 females, mean age 46,7±15,7 yrs.). All patients received losartan during 12 months. All patients showed I/D- polymorphism in ACE gene and change in A1166C of gene AGTR1 using PCR-RFLP analysis. **Results.** Losartan therapy improved hemodynamic state in HCMP patients, but was unevenly effective in respect of left ventricular hypertrophy regression (LVH). The greatest positive effect of treatment was noted in most of the patients (87,5 %) that were the carriers of heterozygous genotype combination AC(AGTR1)/ID(ACE) and in 58,3 % of carriers of homozygous genotypes AA(AGTR1)/DD(ACE). In subjects with genotype combination of AA(AGTR1)/II ACE a resistant LVH was discovered in 87,5 % of cases. **Conclusion.** Prior to losartan therapy, it is reasonable to perform genotyping of RAAS proteins (I/D gene polymorphism ACE and A1188C gene polymorphism AGTR1), which allows considering genetic factors susceptible to the drug administered.

Key words: hypertrophic cardiomyopathy, AGTR1 and ACE gene polymorphism, angiotensin II beta-blocker.

КУШНИРУК В.О., 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

МОРФОЛОГІЧНІ ТА РОСТОВІ ОСОБЛИВОСТІ НОВОЇ ЛІНІЇ КЛІТИН ЛЮДИНИ 4BL

Клітинні лінії різного походження активно використовуються у фундаментальних дослідженнях, для цілей клітинної терапії [1, 2], промислової біотехнології, розробки та тестування лікарських препаратів, в експериментальній онкології тощо [3]. Переважна кількість постійних ліній клітин людини мають пухлинне походження, є злоякісними і характеризуються значними змінами каріотипу і порушеннями регуляції роботи мітотичного апарату. Значна частина постійних ліній клітин людини отримана або з тканин ембріонального походження, або їхня іморталізація здійснювалася шляхом вірусної трансформації чи за допомогою введення векторних конструкцій з певними генами [3]. Тому оригінальна клітинна лінія 4BL, отримана із периферійної крові здорового донора у відділі генетики людини, викликає особливий інтерес. Клітинна лінія 4BL успішно пододала 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.

Морфологія клітин є однією з ключових характеристик клітинної лінії, оскільки свідчить про належність клітин до того чи іншого типу, оцінка морфології клітин дає змогу оцінити їхній стан, запідозрити наявність контамінації, визначити потребу в пересіві і т.д. Криві росту, як і морфологія клітин, є важливою характеристикою клітинної лінії, знання її кінетичних параметрів суттєво допомагає досліднику при плануванні експериментів. На різних стадіях росту, що описуються відповідною кривою, клітини значно відрізняються між собою за властивостями. Аналіз кривих росту дозволяє визначити оптимальне розведення при посіві та термін для зміни середовища і субкультивування, для введення речовин, що тестується, та накопичення потрібного продукту тощо. Таким чином, метою роботи було дослідити морфологічні та ростові особливості нової лінії клітин людини 4BL.

Матеріали та методи

У роботі використовували клітинні популяції нової лінії клітин 4BL, яка отримана із периферійної крові здорового донора, та її клони – C11, C12 та C13. Початково клітини вирощували на фідері мітотично інактивованих фібробластів людини, оброблених мітоміцином С в концентрації 10–20 мкг/мл, та культивували з додаванням цитокінів LIF, SCF і IL-3 по 2 нг/мл кожного і 30 % середовища, кондиційованого ембріональними гермінативними клітинами людини [4]. Згодом відбирали клони клітин, які швидко росли та культивували їх як моношарову культуру у стандартному середовищі DMEM («Sigma», США) із додаванням 100 ОД/мл пеніциліну, 100 мкг/мл стрептоміцину, та 10 % ембріональної сироватки теляти.

Також досліджували динаміку змін каріотипу клітинної лінії 4BL6 при тривалому культивуванні [5].

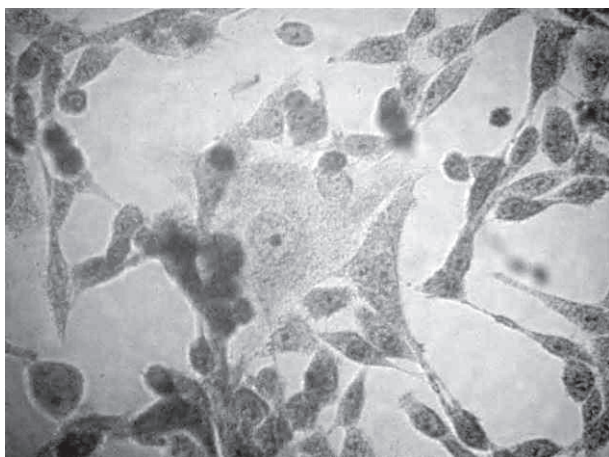
Результати та обговорення

У клітинній лінії 4BL найбільш виражені два морфологічні типи клітин: витягнуті фібробластоподібні та подібні до трикутника або більш розпластані епітеліоподібні клітини (рис. 1), з невисокою частотою зустрічаються круглі клітини, які відкріплюються від поверхні та пе-

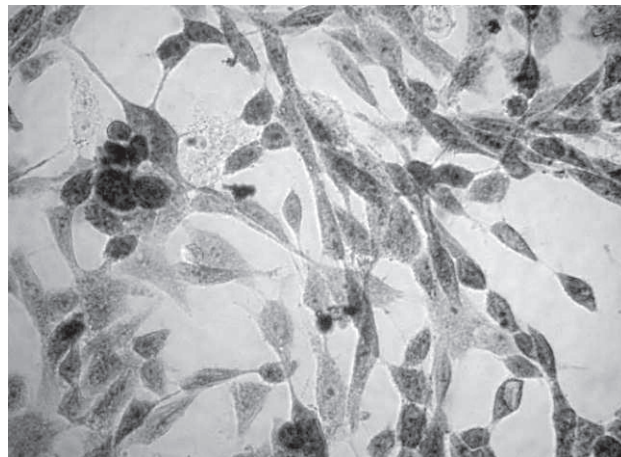
Для морфологічних досліджень клітини вирощували на малих чашках Петрі (d=3 см), при досягненні субконфлуентного (subconfluent) моношару середовище відбирали, клітини промивали двічі-тричі PBS та забарвлювали 1 % розчином нейтрального червоного та фотографували на мікроскопі Primo Star «Carl Zeiss» за допомогою програми Axio Vision.

Для аналізу ростових властивостей клітини розсівали на 10 флаконів (об'ємом 10 мл) по 100 тис. клітин на флакон і додавали по 3 мл ростового середовища. Далі через кожні 24 год клітини знімали з поверхні культурального посуду за допомогою суміші розчинів 0,25 % трипсину та 0,02 % ЕДТА (1:3), підраховували їхню кількість у лічильній камері Горяєва і визначали загальну кількість клітин в культуральному флаконі. При закисненні середовища його змінювали на свіже [3].

реходять у суспензію. Клітини даної лінії більш-менш однорідні за розмірами та мають округле ядро, подекуди спостерігаються багатоядерні клітини та клітини-гіганти (рис. 1, а). На рис. 1, б у лівому верхньому кутку видно ділянку багатоядерного росту.



а)

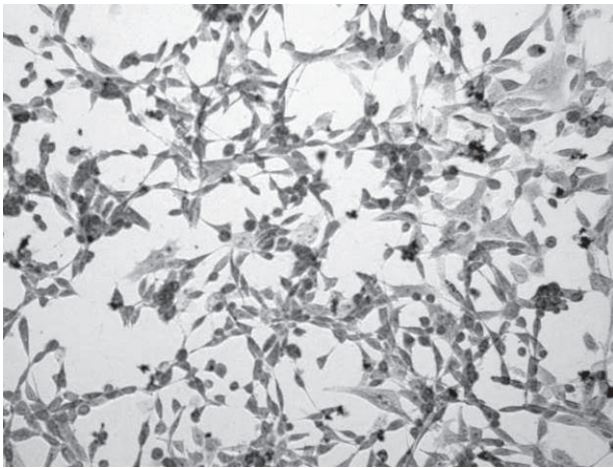


б)

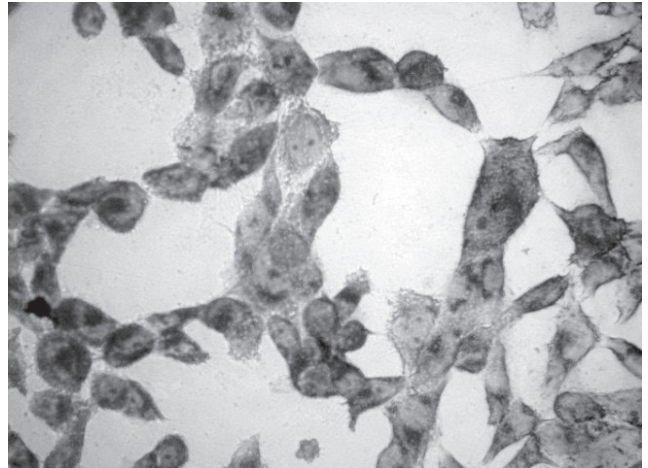
Рис. 1. Мікрофотографія клітин лінії 4BL 163пасаж, забарвлення нейтральним червоним, 600x

Цікавим є характерна гістоархітекtonіка клітин в культурі: вони розташовуються не безладно та стохастично на поверхні культурального посуду, а часто утворюють клітинні асоціації, серед яких є типовими колові та напівколові

структури (рис. 2). Останній факт може свідчити про наявність у даної клітинної лінії стовбурового потенціалу, що підтвердилось у спеціально проведених дослідженнях.



а)

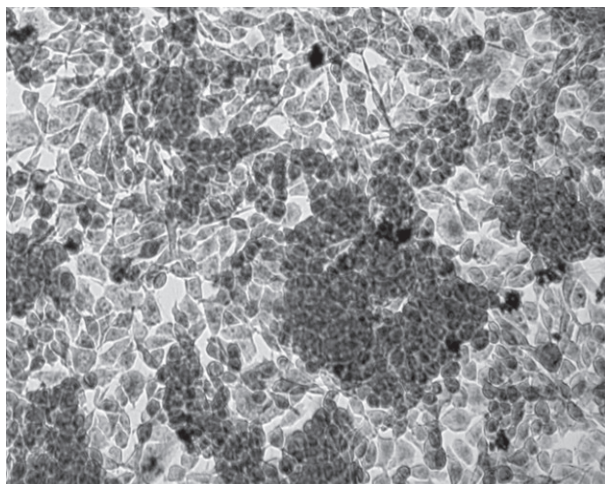


б)

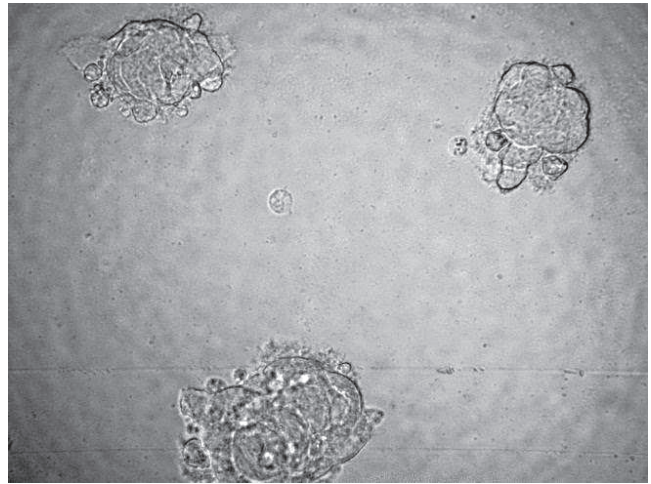
Рис. 2. Гістоархітектоніка клітинної лінії 4BL, забарвлення нейтральним червоним: а) 163 пасаж, 120х, б) 226 пасаж, 600х

Клітинна лінія 4BL вирощується як стандартна моношарова культура, проте при досягненні конфлуентного моношару за вчасної зміни

середовища, клітини здатні до багат шарового росту, і ця властивість не залежить від кількості пасажів (рис. 3, а).



а)



б)

Рис. 3. а) мікрофотографія з ділянками багат шарового росту лінії 4BL, 127 пасаж, забарвлення нейтральним червоним, 300х, б) мікрофотографія незабарвлених багат шарових колоній лінії 4BL C13, 17-й пасаж, 600х

Клітини цієї лінії здатні рости в напіврідких середовищах (1,4 % метилцелюлозі та 0,3 % агарі), формуючи утворення, подібні до ембріодних тіл, а інколи і величезних конгломератів, що більш детально розглянуто раніше [4]. Тест в напіврідкому агарі є неоднозначним і може вказувати як на малігнізацію клітинної лінії в процесі культивування, так і на наявність у неї стовбурового потенціалу. Відомо, що здатність рости в напіврідкому середовищі мають як злякисні клітини, так і плюрипотентні стовбурові клітини, а також мультипотентні стовбурові крово-

творні клітини [3].

Загалом, клітинна лінія 4BL та її клони мають однакову морфологію, здатні формувати напівколові та колові утворення на поверхні культурального посуду та здатні до багат шарового росту після досягнення конфлуентного моношару. Проте клони лінії 4BL мають цікаву особливість: ми спостерігали формування багат шарових колоній не в напіврідкому середовищі, а на поверхні культурального посуду при звичайному культивуванні (рис. 3, б).

Наступним етапом роботи було отримання

та аналіз кривих росту. Знання стадії росту культури і параметрів її кінетики є критичним для планування певних експериментів в культурі клітин, оскільки на різних стадіях кривої росту клітини значно відрізняються між собою за властивостями. Клітинна лінія 4BL характеризується майже повною відсутністю lag-фази на 146-му та 224-му пасажі, клітини одразу переходять до експоненційного росту, коротка lag-фаза спостерігалась на 136-му пасажі. Цікавою особливістю даних кривих росту є їх ступінчастість. Перший період експоненційного росту на пасажах 136 і 146 триває три доби, далі йде точка переходу і ріст клітин сповільнюється на добу, а з четвертої доби починається наступний період експоненційного росту, який на 136-му пасажі продовжується до сьомої доби, а далі йде на спад, а на 146-му триває до п'ятої доби. На 224-му пасажі спостерігається подібна картина, проте період сповільнення росту триває довше: з другої по п'яту добу, далі добу триває другий період експоненційного росту, а з шостої по сьому добу спостерігається фаза плато (рис. 5).

Ще одна цікава особливість кривих росту клітинної лінії 4BL – двохступінчата стадія сповільнення росту з формуванням двох піків мак-

симальної чисельності клітин, що нагадує затухаючі коливання фізичних явищ. Простою мікробіологічною гіпотезою про виснаження основного джерела живлення (глюкози) та відповідне сповільнення росту клітин, а потім перехід клітин на додаткове джерело живлення і відповідно, відновлення фази експоненційного росту [6], дане явище пояснити не можна, оскільки культуральне середовище регулярно змінювалось. Можливо, клітини досягають певної максимальної чи суб-максимальної кількості і далі частина клітин гине – відповідно реєструється спад кривої росту; мертві клітини, не прикріплені до субстрату при зміні середовища втрачаються, таким чином, звільняється певна кількість вільного простору, яке намагаються зайняти сусідні клітини. Вони вступають у мітотичний цикл, і відповідно, на кривій росту спостерігається ще один пік, а далі при такій кількості клітин накопичуються токсичні метаболіти, що незворотно пригнічує життєдіяльність клітин та веде їх до поступової загибелі.

Криві росту клонів лінії 4BL були подібні до кривих росту самої лінії з характерним двохступінчатим зниженням кількості клітин та формуванням двох піків кривої росту.

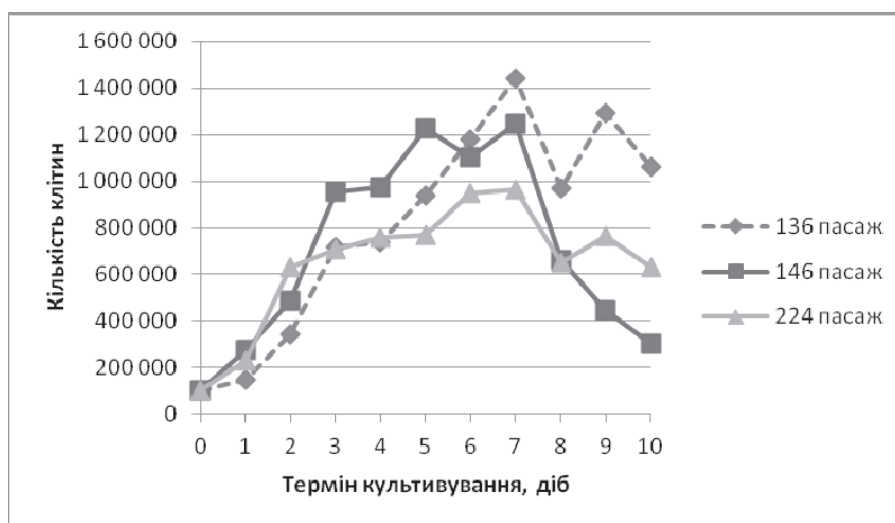


Рис. 5. Криві росту клітинної лінії 4BL6: 136-й, 146-й та 224-й пасажі

Висновки

Клітинна лінія 4BL та її клони морфологічно характеризуються двома найбільш вираженими типами клітин: фібробластоподібними та епітеліоподібними, крім того, вони формують колові та напівколові структури на поверхні

культурального посуду. Характерною особливістю кривих росту даної лінії та її клонів є двохступінчате зниження при падінні кількості клітин з формуванням двох піків максимальної чисельності.

Література

1. Sng J., Lufkin T. Emerging Stem Cell Therapies: Treatment, Safety, and Biology // Stem Cells International. – 2012. – P. 1–9.
2. Jacobs S.A., Roobrouck V.D., Verfaillie C.M., Gool S.W.V. Immunological characteristics of human mesenchymal

- stem cells and multipotent adult progenitor cells // *Immunol. Cell Biol.* – 2013. – Vol. 91, №1. – P. 32–39.
3. Фрешни Р.Я. Культура животных клеток: практическое руководство. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2010. – 691 с.
 4. Лукаш Л.Л., Яцишина А.П., Кушнирук В.О., Пидпала О.В. Репрограммирование соматических клеток взрослого человека *in vitro* // Фактори експериментальної еволюції організмів. – К: Логос, 2011. – Т. 11. – С. 493–498.
 5. Кушнирук 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* // Фактори експериментальної еволюції організмів. – К: Логос, 2012. – Т. 3. – С. 313–318.
 6. Morange M. The scientific legacy of Jacques Monod // *Research in Microbiology.* – 2010. – Vol. 161. – P. 77–81 p.

KUSHNIRUK V.O., RUBAN T.P., LUKASH L.L.

Institute of Molecular Biology and Genetics of NAS of Ukraine

Ukraine, 03680, Kyiv, Zabolotnogo str., 150, e-mail: kushniruk_v_o@ukr.net

MORPHOLOGICAL AND GROWTH PECULIARITIES OF NEW HUMAN CELL LINE 4BL

Morphology of cells and growth curve are important characteristics of cell line, so the *aim* of this research was to study these peculiarities. **Methods.** We investigated original cell line 4BL, obtained from peripheral blood of healthy donor, which was successfully passed through the Heyflick limit. Methods of cell cultivation and standard cytological methods were used. **Results.** Cell line 4BL and its clones consist of two main types of cells: fibroblast-like and epithelioid. Cells have non-random distribution on the surface of culture dish and form cycle-like structures. These properties indirectly denote about stem potential of these cells, what have been confirmed by special investigations. Growth curves had graded character: virtually absence of lag-phase, two periods of exponential growth with phase of growth impairment between them, virtually absence of stationary phase and two peaks with maximum quantity of cells and accordingly two-step decreasing. **Conclusions.** Fibroblast-like and epithelioid cells are two main morphological types of cell line 4BL, so as it's clones 1, 2 and 3. Ability to form cycle structures at the surface of culture dish was observed. Growth curves had graded character.

Key words: human cell line, growth curves, stem cells.

МАКУХ Г.В., ГНАТЕЙКО О.З.

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»

Україна, 79008, Львів, вул. Лисенка, 31 а, e-mail: makukh.h@ihp.lviv.ua

РОЗРОБКА ПІДХОДІВ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕГРЕГАЦІЙНОЇ СКЛАДОВОЇ ГЕНЕТИЧНОГО ТЯГАРЯ У ЛЮДИНИ

У популяціях людини накопичений тягар генетичної патології і значна частка інвалідизації припадає на спадкові хвороби, які спричинені мутаціями, що накопичені еволюційно [1]. Успадковані мутантні алелі генів, які є причиною розвитку хвороб людини, є сегрегаційною складовою генетичного тягаря [2] й одна з головних концепцій медичної генетики полягає у визнанні положення про їх еволюційне накопичення [3]. Це зумовлює актуальність вивчення спектру, розповсюдження, зв'язку з фенотипом різних алельних варіантів гена у кожній конкретній «крайовій» популяції, етнічній чи територіальній групі [4, 5].

Дослідження, проведені в окремих регіо-

нах України методами генетичного моніторингу, переважно фокусувалися на мутаційній складовій, разом з тим, вони показали й значну частку сегрегаційної складової генетичного тягаря. Єдиного підходу для обчислення сегрегаційної складової генетичного тягаря немає, проте дані про сегрегаційну складову генетичного тягаря є необхідними для проведення медико-генетичного консультування, розрахунку генетичного ризику, запровадження програм масового скринінгу та планування профілактичних заходів у системі охорони здоров'я населення. Мета роботи: розробити та запропонувати підходи для характеристики сегрегаційної складової генетичного тягаря.

Матеріали і методи

Використано банк ДНК жителів Західного регіону України, у якому зібрано понад 3000 взірців ДНК пацієнтів із різними нозологіями та здорових осіб. Проаналізовано частоту і спектр мутацій генів CFTR, HFE, NBN, SMN1, PAH та відповідних моногенних захворювань; розподіл

Результати та обговорення

Оскільки фенотипові наслідки сегрегаційного генетичного тягаря виявляються на різних етапах онтогенезу [6], для отримання об'єктивної характеристики цього показника слід розглянути біологічні моделі, які б виявляли його дію в різні періоди розвитку людини. Так, на ранніх етапах онтогенезу дія генетичного тягаря може спричинитися до загибелі ембріона і проявляється у вигляді самовільного абортів [7]. Нез'ясованими є питання ідентифікації локусів, які входять до генної сітки спадкових чинників, що збільшують ризик самовільного абортів; з урахуванням співвідношення материнського та генотипу плода. Проведено аналіз спектра і частоти окремих алельних варіантів генів фолатного обміну (MTHFR, MTR, MTRR), гемостазу (FV, FII, PAI-1), інсулін-подібного фактору росту – II (IGF2) у жінок з рецидивуючим мимовільним абортів і в генетичному матеріалі самовільно елімінованих ембріонів у порівнянні з відповідними контрольними групами. В результаті проведеного дослідження встановлено значуще підвищення ризику викидня при наявності у жінки наступних алелів і генотипів: MTR 2756AA – в 1,92 рази, IGF2 820GA – в 2,5 рази, MTRR 66AG і MTRR 66GG в порівнянні з генотипом MTRR 66AA - в 3,76 рази, мутації 1691G → A гена FV – в 3 рази, 4G алелі локусу 675 4G/5G гена PAI-1 – в 1,6 рази. Дослідження, проведені в генетичному матеріалі самовільно елімінованих ембріонів, показали, що наявність у ембріона генотипу MTHFR 677TT може збільшувати ризик мимовільного викидня в 7 разів, MTRR 66AG – в 4 рази, IGF2 820GA – у 8 разів.

У результаті проведених досліджень встановлено розподіл алелей і генотипів поліморфних локусів C677T і A1298C гена MTHFR, A2756G гена MTR, A66G гена MTRR, 675 5G/4G ins/del гена PAI-1, G1691A гена FV і G20210A гена FII, G820A гена IGF2 в загальній репрезентативній вибірці жителів Західного регіону України. Виявлено відповідність отриманих результатів розподілу генотипів рівновазі Харді-Вайнберга у всіх досліджуваних локусах.

Успадковані мутації найчастіше проявля-

ються фенотипово як рецесивні моногенні захворювання [8]. Відомо, що існують відмінності між популяціями та регіонами щодо частот аутосомно-рецесивних захворювань і спектра мутацій, що їх спричинюють [9]. Для встановлення внеску окремих нозологій та мутацій, які їх спричинюють, у структуру генетичного тягаря і визначення значення їхнього ризику для жителів Західноукраїнського регіону проведено дослідження мутацій генів найбільш частих аутосомно-рецесивних захворювань: HFE (зумовлює розвиток спадкового гемохроматозу), CFTR (муковісцидозу), SMN1 (спінальної аміотрофії), PAH (фенілкетонурія), NBN (синдрому Ніймеген).

Визначено, що серед загальної вибірки жителів Західної України 3,4 % є гетерозиготними носіями мажорних мутацій гена CFTR (муковісцидоз), 3,23 % – гена HFE (спадковий гемохроматоз), 1,7 % (2,7% – жителів Львівської області) – гена SMN1 (спінальна аміотрофія), 2,1 % – гена PAH (фенілкетонурія), 1,1 % – гена NBN (синдром Ніймеген) і мають ризик народження дітей з відповідними аутосомно-рецесивними захворюваннями.

Встановлено частоту і спектр алелів гена і запропоновано алгоритм молекулярно-генетичного тестування мутацій гена CFTR для практичної діагностики муковісцидозу та медико-генетичного консультування. Вперше виявлено, що у хворих на МВ з України другою за частотою є мутація 2184insA, інформативність якої становить понад 7 %. На основі виявленого спільного гаплотипу на хромосомах з цією мутацією підтверджена попередньо висунута нами гіпотеза про походження цієї мутації з Галичини.

Проведено молекулярно-генетичне дослідження мутацій гена SMN у пацієнтів з клінічними ознаками спінальної аміотрофії. Серед пробандів делеція 7-го екзонів гена SMN1 в гомозиготному стані виявлена у 55,4 % хворих СМА. Гомозиготну делецію 8-го екзонів гена SMN1 виявляли тільки в компаунді з делецією 7-го екзону, і це стосувалося 44,5 % обстежених

пацієнтів. Частота виявлення гомозиготних делецій 7 і 8-го екзонів гена SMN1 знижується з полегшенням клінічних проявів захворювання. Проведена молекулярно-генетична діагностика мажорної мутації R408W (с. 1222C>T) гена фенілаланінгідроксилази у хворих ФКУ і членів їх сімей та визначена частота мутації R408W в дослідженій групі пробандів, яка становить 62,9 %. Заперечено наявність мутацій R158Q і Y414C гена ФАГ у хворих ФКУ, у яких мажорна мутація R408W не виявлена або виявлена в гетерозиготному стані. Молекулярно-генетичний аналіз мутації 657del5 гена NBN дозволив виявити 35 випадків гомозиготного носійства мутації 657del5 і верифікувати синдром Ніймеген у 38 осіб. Визначено, що частота мутації 657del5 гена NBN у хворих синдромом Ніймеген становить 96,05 %.

Визначено показники ризику гетерозиготного носійства поширених мутацій генів CFTR, HFE, SMN1, PAH, NBN для використання в практиці медико-генетичного консультування мешканців Західної України. Молекулярно-генетичне дослідження дозволило провести коректну діагностику моногенних захворювань і виявити здорових гетерозиготних носіїв мутацій. ДНК-діагностика була застосована в пренатальних дослідженнях аутосомно-рецесивної патології як метод ефективної профілактики важкої інвалідизації та ранньої дитячої смертності.

Ще одним наслідком реалізації генетичного тягаря є непліддя, висока частота якого зумовлює порушення процесів природного відтворення чисельності популяції. Тому, інформативними можуть бути дані про генетичні чинники, що зумовлюють порушення сперматогенезу у чоловіків.

Молекулярно-генетичні дослідження генетичних факторів чоловічого непліддя проведені серед інфертильних чоловіків з ідіопатичними порушеннями сперматогенезу. Встановлено, що частота носійства мутацій гена CFTR в обстеженій групі безплідних чоловіків з порушеннями сперматогенезу вище в порівнянні з контрольною вибіркою. На прикладі спадкових мутацій гена CFTR проявляється подвійний негативний ефект сегрегаційної складової генетичного тягаря: підвищений ризик виникнення

моногенної спадкової патології (муковісцидоз) і порушення фертильності (ізолюване непліддя) у чоловіків. У неплідних чоловіків Західноукраїнського регіону мікроделеції регіону AZF Y-хромосоми є причиною 6,0% випадків ідіопатичного порушення сперматогенезу, у тому числі 15,3 % аспермії. У групі неплідних чоловіків проведено молекулярно-генетичне дослідження часткових делецій регіону AZFc і виявлено делеції типу gr/gr – у 3,43 %, b2/b3 – у 3,71 %, b1/b3 – у 0,29 % і відсутність локусу sY1201 – у 0,6 % чоловіків.

У чоловіків з частковими делеціями регіону AZFc поширеним був гаплотип R1a1 (28 %), при його повній відсутності у чоловіків без делецій, у 46 % яких встановлено гаплотип R1a1. У чоловіків Західноукраїнського регіону виявлено 19 різних гаплотипів Y-хромосоми. Частіше у чоловіків є Y-хромосоми, які відносяться до гаплотипів R1a1 (18 %), R1a1a (18 %) і I2a (19 %). Обчислення коефіцієнта додаткових шансів показало, що наявність гаплотипу R1a1 є фактором, що двадцятикратно збільшує ризик виникнення часткових делецій (ВШ=20,09, 95 % ДІ: 2,44–165,57, P=0,0004), а приналежність до гаплогрупи N-одиннадцятикратно (ВШ =11,05, 95 % ДІ: 1,21–101,2, P = 0,019). Доведено, що часткові делеції AZFc регіону є не тільки варіантом поліморфізму, але й значимим генетичним фактором порушення сперматогенезу у чоловіків. У носіїв R1a1 гаплотипу Y-хромосоми значно зростає ризик виникнення часткової делеції регіону AZFc типу gr/gr, у носіїв гаплогрупи N-виникнення часткових делецій типу b2/b3.

У результаті проведених досліджень отримано дані про розповсюдження та фенотипові асоціації окремих алелів та генотипів генів MTHFR, MTR, MTRR, FV, FII, PAI-1, IGF2, HFE, CFTR, SMN, PAH, NBN, AZF, гаплотипів Y-хромосоми серед жителів Західноукраїнського регіону. Охарактеризована частота, особливості спектра і фенотипові асоціації спадкових мутацій, які реалізуються на різних етапах онтогенезу людини у вигляді збільшення ризику мимовільного абортів, виникнення аутосомно-рецесивних захворювань і порушення фертильності та є сегрегаційною складовою генетичного тягаря.

Висновки

1. На прикладі жителів Західноукраїнського регіону розроблено та застосовано діагностичну модель для характеристики сегрегаційної складової генетичного тягаря.

2. Запропонований діагностичний підхід включає аналіз материнського та генотипу плода при самовільному аборті; вивчення частоти гетерозиготного носійства найбільш частих ау-

тосомно-рецесивних захворювань; аналіз генетичних чинників порушення сперматогенезу у чоловіків.

3. Застосування діагностичної моделі дає можливість виявляти негативні наслідки генети-

чного тягаря, які проявляються у вигляді хвороб людини й маніфестують на різних етапах онтогенезу та здійснювати ефективні профілактичні заходи.

Література

1. Genetics // World Health Organization [Електронний ресурс]: . – Режим доступу : <http://www.who.int/topics/genetics/en> (дата звернення: 20.02.2012).
2. Баранов В.С. Мутации. Классификация, номенклатура, механизмы воздействия, методы диагностики / В.С. Баранов, Т.Э. Ивашенко // Геномика – медицине. Научное издание. – М.: Академкнига, 2005. – С. 40–50.
3. Phelps F.M. IV. A model for the evolution of the genome: the effect of stochasticity on genetic loads // IMA J Math Appl Med Biol. – 1995. – Vol. 12 (1). – P. 1–11.
4. Кордюм В. А. Стан генофонду – формулювання критеріїв // Биополимеры и клетка. – 1993. – Т. 9, №2. – С. 80–111.
5. Гинтер Е.К. Медицинская генетика: учебник / Е.К. Гинтер. – М. : Медицина, 2003. – 448 с.
6. Harpending H., Cochran G. Genetic diversity and genetic burden in humans / H. Harpending, // Infect Genet Evol. – 2006. – Vol. 6, № 2. – P. 154–162.
7. Богатирьова Р.В., Гречанина О.Я. Генетика репродуктивних втрат: зб. наук. праць. – К. : Б.В., 2003. – 206 с.
8. Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) [Електронний ресурс] // The National Center for Biotechnology Information: [сайт]. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=omim> (дата звернення: 02.03.12).
9. Балановский О.П., Кошель С.М., Запорожченко В.В. и др. Эколого-генетический мониторинг в популяциях человека: гетерозиготность, гаплотипическое разнообразие мтДНК и генетический груз // Генетика. – 2011. – Т. 47, №11. – С. 1523–1535.

МАКУКН Н.В, HNATEYKO O.Z.

«Institute of Hereditary Pathology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»
Ukraine, 79008, Lviv, Lysenko, 31, e-mail: makukh.h@ihp.lviv.ua

APPROACHES FOR THE DEFINING OF SEGREGATION PART OF GENETIC LOAD IN HUMAN

Aims. Evolutionary accumulated mutant alleles that cause human diseases are segregated part of the genetic load in human. One approach to estimate the segregation part of the genetic load in humans is not existed. The objectives of the study – to develop and propose the approaches for segregation component of genetic load characterizing. **Methods.** The data on the distribution of alleles and genotypes of MTHFR, MTR, MTRR, FV, FII, PAI-1, IGF2, HFE, CFTR, SMN, PAH, NBN AZF genes and Y-chromosome haplotypes among the inhabitants of the Western region of Ukraine have been composed and examined. **Results.** The segregated part of the genetic load was defined by establishing the distribution and characteristics of the spectrum of mutations that are phenotypically manifested at different stages of ontogenesis in the form of human diseases. It has been found that CFTR gene mutation 2184insA is the second most frequent allele among Cystic Fibrosis patients from Ukraine. It has been proved that AZFc partial deletions are not only a polymorphism variant but a genetic factor of men spermatogenesis disorders. It has been described the relationship between Y-chromosome haplotypes and AZFc region partial deletions: haplogroup N increases the risk of b2/b3 partial deletion, and the haplotype R1a1 increases the risk of gr/gr partial deletion. **Conclusions.** It has been developed and applied the diagnostic approach that includes an analysis of maternal and fetal genotype in case of spontaneous abortions, the study of the frequency of heterozygous carriers of the most common autosomal recessive diseases and the analysis of genetic factors of impaired spermatogenesis in men.

Key words: genetic load, mutation, human diseases, genetic testing.

НЕУМЕРЖИЦЬКА Л.В., КЛИМЕНКО С.В., КОВАЛЬ Г.М., ВЕРБИЛЕНКО Р.М., ШКАРУПА В.Н.

*ДУ «Національний Науковий Центр Радіаційної Медицини НАМН України»
Україна, 04050 Київ, вул. Мельникова, 53, e-mail: lneum@bigmir.net*

ОЦІНКА ХРОСОМНИХ ПОРУШЕНЬ В СОМАТИЧНИХ КЛІТИНАХ ХВОРИХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ, ЩО ПОСТРАЖДАЛИ ВІД ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ АВАРІЇ

В Україні ризик розвитку онкологічних захворювань неухильно збільшується, що вимагає проведення своєчасних широкомасштабних медико-біологічних досліджень. Існуючи на сьогодні епідеміологічні дослідження, які спрямовані на визначення причини різкого зростання раку пов'язують даний факт з Чорнобильською катастрофою [1, 2]. А численні наукові розробки радіобіологів і генетиків підтверджують значення радіаційно-індукованої дестабілізації хромосомного апарату в злоякісній трансформації клітин людини. Тобто, саме іонізуюча радіація, навіть в «малих дозах», здатна індукувати геномну нестабільність у вигляді різних порушень хромосом і обумовлювати виникнення онкопатології. Крім того, хромосомні порушення, які є важливою характеристикою пухлинної клітини, можуть бути як наслідком, так і причиною розвитку раку. Перші спроби щодо розкриття даного механізму належать голандському генетику Гуго де Фризу, який в 1901 році висловив припущення, що рак виникає в результаті змін у спадковому апараті клітини. Надалі в 1914 році ні-

Матеріали і методи

Для вирішення питань щодо визначення частоти (ХА) у лімфоцитах периферичної крові хворих на РЩЗ було сформовано 3 досліджувані групи.

Перша – основна – включала хворих на РЩЗ, які зазнали дії іонізуючої радіації. Це учасники ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС (УЛНА), особи евакуйовані з територій, забруднених радіонуклідами і мешканці територій з підвищеною щільністю радіоактивного забруднення. Вік хворих становив в середньому $53,2 \pm 5,5$ років. Друга – група порівняння складалася з хворих на РЩЗ, які не зазнали радіаційного впливу, тобто не мали професійних контактів з джерелами (ІВ), не мешкали і не були евакуйовані з забруднених радіонуклідами територій, а також протягом трьох місяців до обстеження не проходили діагностичних рентгенологічних процедур. Середній вік групи дорівнював $49,7 \pm 9,3$ років. Третя - контрольна група складалася з практично здорових донорів обох статей віком $47,6 \pm 8,6$ років, що не мають професійних кон-

мецький ембріолог Боварі вперше зазначив, що в основі малігнізації лежать незворотні зміни, що виявляються у вигляді різних порушень числа і структури хромосом в соматичних клітинах. Але, проблемою досліджень в цій галузі є те, що радіаційне опромінення є причиною розвитку лише частини випадків в групах хворих на радіаційно-асоційований рак, тоді як більшість з них має спонтанне походження. Крім того, на людину впливає величезна кількість мутагенних факторів нерадіаційної природи, що також ускладнює виокремлення ефекту іонізуючої радіації.

Представлена робота є продовженням науково-дослідної роботи, яка полягає в визначенні особливості дестабілізації геному соматичних клітин в осіб, які зазнали дії іонізуючої радіації внаслідок аварії на Чорнобильській АЕС і захворіли на рак щитоподібної залози (РЩЗ).

Метою цього дослідження було визначити рівень та спектр хромосомних аберацій (ХА) в лімфоцитах периферичної крові хворих на РЩЗ, що зазнали в минулому дії іонізуючого випромінювання (ІВ) унаслідок аварії на ЧАЕС.

Тактів з джерелами ІВ, не мали протягом трьох місяців гострих захворювань і діагностичних рентгенологічних процедур за півроку до обстеження.

Цитогенетичне обстеження онкохворих здійснювалося після того, як вони були прооперовані і ще не отримували хіміо-, радіоїод- та рентгентерапію. При цьому використовувався методу цитогенетичного аналізу.[3], значимість якого обумовлено високою радіочутливістю лімфоцитів крові людини, низьким спонтанним рівнем ХА, наявністю специфічних щодо дії радіації хромосомних перебудов, дозовою залежністю, котра добре вивчена, доступністю та об'єктивністю. Методика приготування цитогенетичних препаратів описана нами в раніше опублікованій роботі .

Під час цитогенетичного аналізу враховували усі структурні ХА хромосомного і хроматидного типів, анеуплоїдії і поліплоїдії. На одне спостереження аналізували до 200 метафаз згідно з рекомендаціями Н.П. Бочкова [4].

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали з використанням пакету програм

Результати та обговорення

Проведений цитогенетичний аналіз показав, що в спектрі структурних ХА виявлено хромосомні та хроматидні порушення (парні та одиночні фрагменти), дицентрики, ацентричні кільцеві хромосоми, міжхроматидні обміни. Числові порушення представлені поліплоїдами і анеуплоїдами

Частота аберантних метафаз що включає структурні і числові аберації хромосом (АМ) в лімфоцитах периферичної крові основної групи хворих на РЩЗ, що зазнали дії ІВ достовірно перевищує такий показник в групі порівняння (онкохворі на РЩЗ, що не зазнали в минулому дії ІВ) і достовірно вища ніж в контрольній групі. Виявлено, що у кожної окремої особи основної групи рівень АМ коливався в межах від 3,4 % до 11,2 %. Такий діапазон розбіжностей може бути пояснений ступенем малігнізації та підвищеною індивідуальною радіочутливістю певних людей. У цій групі онкохворих зареєстровані всі форми злоякісних новоутворень ЩЗ – папілярна, фолікулярна і медулярна карциноми. На думку онкогенетиків, саме у хворих на медулярний РЩЗ частіше спостерігається підвищений рівень аберацій хромосом в культурі лімфоцитів периферичної крові [5]. У метафазних пластинках лімфоцитів хворих досліджуваної основної групи спостерігалися аберації стабільного (одиночні і парні фрагменти) і нестабільного типу (дицентрики і кільцеві хромосоми) Наявність ацентричних кільцевих хромосом і дицентриків в цій групі і відсутність таких в групі порівняння і контролі, може свідчити про радіогенний характер новоутворення. Важливим є те, що структурні аберації хромосом розглядаються деякими авторами як найбільш вірогідні події, які пов'язані з малігнізацією. На думку ряду дослідників, саме наявність анеуплоїдії та поліплоїдії в метафазних пластинках може сприяти появі нових структурних порушень [6]. Частота анеуплоїдії і поліплоїдії в лімфоцитах хворих в даній групі не відрізнялася від такої ні в групі порівняння, ні в контролі.

Таким чином, дослідження частоти хромосомних аномалій в лімфоцитах периферичної крові хворих на РЩЗ, які в минулому зазнали опромінення в результаті професійної діяльності – УЛНА на ЧАЕС, осіб евакуйованих з радіоактивно забруднених територій і мешканців на забруднених радіацією територіях, дали змогу

Statistica Base Вірогідність відмінностей оцінювали за критерієм Стьюдента при рівні $p < 0,05$.

констатувати, що частота хромосомних пошкоджень в лімфоцитах їх крові перевищує рівень в групі порівняння (хворі на рак, що не зазнали ІВ) і в контролі, а наявність специфічних маркерів радіаційного впливу (дицентрики, кільцеві центричні і ацентричні хромосоми, аноманомальні моноцентрики) може свідчити про радіогенний характер захворювання.

Стосовно цитогенетичного аналізу лімфоцитів хворих на РЩЗ групи порівняння виявлено, що середньогрупова частота аберантних метафаз складала $3,26 \pm 0,50$ на кожні 100 проаналізованих клітин, відповідає верхній межі середнього популяційного спонтанного рівня аберацій, але суттєво перевищує значення даного показника в групі контролю ($1,62 \pm 0,53$ %). Частота структурних мутацій також достовірно перевищувала контрольний рівень і складала 3,14 %. Аналізуючи частоту хромосомних аберацій в залежності від типу пошкодження, було встановлено, що серед аберацій хроматидного типу в лімфоцитах хворих на РЩЗ переважали одиночні фрагменти, які становили більш половини у спектрі всіх зареєстрованих структурних аберацій, на відміну від контрольної групи, де були тільки аберації хроматидного типу, що налічували майже 92%. На частку структурних аберацій хромосомного типу (парні фрагменти) в досліджуваній групі припадало 33 %. Рідше реєструвалися поліплоїдні і анеуплоїдні клітини. В цілому, порівнюючи частоту хромосомних аберацій в обох групах, слід визначити вірогідне підвищення частоти одиночних фрагментів у хворих на РЩЗ групи порівняння порівняно зі здоровими особами контрольної групи, що показано в таблиці.

Хромосомні аберації нестабільного типу (дицентрики, кільцеві хромосоми), які вважаються маркерами радіаційного впливу не зареєстровано.

Стосовно причин виникнення одиночних фрагментів вважається, що цей вид перебудов може ефективно індукуватися в лімфоцитах периферичної крові хімічними мутагенами, які ушкоджують ДНК на пресинтетичній стадії клітинного циклу. Крім того, виникнення хромосомних перебудов у лімфоцитах периферичної крові в групі порівняння можуть полягати в особливостях патогенезу спонтанного варіанту захворювання.

Таблиця. Частота хромосомних пошкоджень у хворих на РЩЗ та здорових осіб

Групи	Основна	Порівняльна	Контрольна
Проаналізовано метафаз			
Типи аберацій	3000	1250	1200
	(M±m) %	(M±m) %	(M±m) %
Одиночні фрагменти	1,70±0,23	1,91 ± 0,29 *	1,09 ± 0,30
Парні фрагменти	2,40±0,27**	1,09 ± 0,34	0,02 ± 0,02
Дицентрики	1,60±0,22**	0,0 ± 0,0	0,00 ± 0,00
Міжхроматидні обміни	0,03±0,03	0,14 ± 0,10	0,00 ± 0,00
Кільцеві хромосоми	0,80±0,16*	0,00 ± 0,00	0,08 ± 0,08
Поліплоїдні клітини	0,70±0,11	0,49 ± 0,28	0,00 ± 0,00
Анеуплоїди	0,96±0,18	0,71 ± 0,24	0,79 ± 0,24
Частота хромосомних аберацій	5,71±0,42**	3,14 ± 0,52 *	1,20 ± 0,30
Частота аберантних метафаз	4,67±0,38**	3,26 ± 0,50 *	1,62± 0,30

Примітки: * – достовірність $P < 0,05$ між показниками однієї групи і контролем, ** – достовірність $P < 0,05$ між показниками обох груп і контролем.

Таким чином, хромосомні ушкодження в лімфоцитах периферичної крові хворих на спонтанний РЩЗ статистично достовірно перевищують такі в контрольній групі по показникам числа аберантних метафаз і частоти структурних аберацій, які представлені одиночними фрагментами.

Разом з тим, приймаючи до уваги, що досліджувана вибірка в групі порівняння складалася з невеликої кількості осіб, включала хворих з різними гістологічними формами РЩЗ остаточного висновку по даному дослідженню зробити

наразі неможливо. Тому необхідні подальші дослідження з врахуванням всіх можливих факторів, які можуть впливати на правильну і обґрунтовану інтерпретацію отриманих даних. Адже пухлинний процес супроводжується глибокими змінами в організмі, у зв'язку з чим хворі, зазнають, окрім перенесеного раніше радіаційного опромінення, впливу ендогенних факторів, дія яких може відбиватися на ефективності процесів репарації та, відповідно, на цитогенетичному статусу клітин шляхом підвищеного рівня структурних і числових аберацій.

Висновки

Встановлено, що частота хромосомних аберацій в лімфоцитах периферичної крові хворих на РЩЗ – ліквідаторів та тих, що проживали і були евакуйовані з радіоактивно забруднених територій, достовірно відрізняється від контролю і перевищує значення верхньої межі середньопопуляційного спонтанного рівня хромосом-

них аберацій. Встановлення підвищеного рівня хромосомних аберацій в лімфоцитах хворих на РЩЗ, що зазнали радіаційного впливу, в порівнянні з таким у хворих на спонтанний РЩЗ, може свідчити, що післярадіаційна хромосомна нестабільність відіграє роль у формуванні радіаційно-асоційованих новоутворень.

Література

1. Берштейн Л.М. Рак щитовидной железы: эпидемиология, эндокринология, факторы и механизмы канцерогенеза / Практическая онкология. – 2007. – Т. 8, №1. – С. 1–8.
2. Schlumberger, M.J. Papillary and follicular thyroid carcinoma // New Engl. J. Med. – 2008. – Vol. 338, №5. – P. 297–306.
3. Хвостунов И.К. Роль стохастических факторов в процессе формирования первичных поврежденных ДНК и хромосомных аберраций при воздействии радиации на соматические клетки млекопитающих *in vivo* и *in vitro*: Автореф. дис. докт. биол. наук: 03.01.01./ Хвостунов Игорь Константинович. – Обнинск, 2011. – 34 с.
4. Бочков, Н.П. Анализ типов аберрантных клеток – необходимый элемент биологической индикации облучения // Мед. радиология. – 1993. – №2. – С. 32–35.
5. Frigyesi A. et al. Power Law Distribution of Chromosome Aberrations in Cancer // Cancer Res. – 2003 – Vol. 63. – P. 7094–7097.
6. Моссэ И.Б. Проблемы оценки генетических эффектов ионизирующей радиации у человека // Техногенна безпека. – 2010. – Т. 116, вип. 103. – С. 4–8.

NEUMERZITSKAYA L.V., KLIMENKO S.W., KOVAL G.M., WERBILENKO R.M.,
V.N. SHKARUPA

*Si «National Scientific Center for Radiation Medicine NAM S of Ukraine»
Ukraine, 04050, Kiev, Melnikov str., 53, e-mail: lneum@bigmir.net*

STUDY OF CHROMOSOMAL ABNORMALITIES IN THE SOMATIC CELLS OF PATIENTS WITH THYROID CANCER WHO SUFFERED FROM THE CHERNOBYL ACCIDENT

Aims. Research level and spectrum of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of patients with thyroid cancer, which were last ionizing radiation due to the Chernobyl accident. **Methods.** Cytogenetic analysis of human lymphocytes. **Results.** Cytogenetic studies of peripheral blood lymphocytes of patients with thyroid cancer. This group of patients previously exposed to radiation. The frequency of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of patients with higher levels of spontaneous and significantly higher than the control group.

Key words: thyroid cancer, chromosome aberrations, radiation.

РЫМАРЬ С.Е., РАЧКЕВИЧ Н.О., КУЛАЧКО А.В., РУБАН Т.А., КОРДЮМ В.А.

*Институт молекулярной биологии и генетики НАН
Украины, 03680, г. Киев, ул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: s.y.rymar@imbg.org.ua
ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН»
Украины, 04114, г. Киев, ул. Вышгородская, 67*

ИНКАПСУЛИРОВАННЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КЛЕТКИ СНО-K1 КАК ИСТОЧНИК РЕКОМБИНАНТНОГО FGF2 ЧЕЛОВЕКА

Современная регенеративная медицина рассматривает возможность использования рекомбинантных белков (гормонов, цитокинов, факторов крови и др.) для достижения терапевтических эффектов при ряде заболеваний человека (диабет I типа, рак, гемофилия, воспалительные, нейродегенеративные заболевания). Использование рекомбинантных белков не всегда обеспечивает необходимый терапевтический эффект в силу их быстрого клиренса. Альтернативой использованию очищенных рекомбинантных терапевтических белков является трансплантация клеток, которые их продуцируют. Трансплантация алогенного клеточного материала требует интенсивной иммуносупрессии, приводящей к серьезным побочным эффектам, таким, например, как оппортунистические инфекции. Интенсивные исследования, связанные с разработкой подходов к трансплантации клеток, которые могут стать источником терапевтических белков и при этом не быть мишенью для атаки со стороны иммунной системы даже, если клетки ксеногенные, привели к появлению технологии инкапсуляции трансплантируемых клеток.

Инкапсуляция клеток в микрокапсулы из безопасных полупроницаемых материалов, ко-

торые позволяют входить питательным веществам и выходить терапевтическим белкам, защищает клетки от атаки иммунной системы и обеспечивает долговременный терапевтический эффект [1, 2]. Наиболее перспективным материалом для инкапсуляции клеток на сегодня считается альгинатный гель [3]. Источником необходимых терапевтических агентов чаще всего служат генетически модифицированные клетки. Цель данного исследования состояла в том, чтобы получить трансгенную линию СНО-K1, которая продуцирует и секретирует в среду рекомбинантный FGF2 человека, и сравнить продукцию и секрецию рекомбинантного FGF2 трансгенными клетками при культивировании их в монослое и в альгинатных микрокапсулах. Интерес к FGF2 продиктован его широкими биологическими функциями, включая пролиферацию и дифференцировку клеток, их выживание, адгезию, миграцию, подвижность и апоптоз, а также ангиогенез, развитие сердечно-сосудистой системы, заживление ран, рост злокачественных опухолей [3]. Кроме того он играет важную роль в процессах, связанных с повреждением сердца, почек и кишечника. Эти свойства FGF2 открывают перспективы его использования в терапевтических целях.

Материалы и методы

В работе использованы плазмиды pUC 28, pJET2.1-blunt, pEGFP-C1 (Clontech), штаммы *Escherichia coli*: DH10B, HB 101, XL 1, клеточная линия CHO-K1 (клетки яичника китайского хомячка).

Выделение плазмидных ДНК, обработка их эндонуклеазами рестрикции, лигирование, получение компетентных клеток *E. coli*, анализ рекомбинантных плазмид проводили, используя стандартные методики [4]. Трансфекцию эукариотических клеток рекомбинантными плазмидами проводили с помощью полиэтиленimina (ПЭИ). Клетки выдерживали с комплексами ДНК-ПЭИ в течение часа. Селекцию клеток CHO-K1, трансфицированных pC1-F (рис. 1), проводили на G418 (200 мкг/мл). РНК из клеток CHO-K1 выделяли с помощью набора для выделения РНК NucleoSpin RNA II (Macherey-Nagel Inc.). Экспрессию FGF2 в клетках CHO-K1 проверяли методом ОТ-ПЦР, используя набор для синтеза к-ДНК (Thermo scientific).

Анализ секреции FGF2 в культуральную среду проводили, используя Вестерн-блот анализ. Клетки выращивали в среде F 10, содержащей 10 % эмбриональной телячьей сыворотки

(Sigma), трижды отмывали средой F10 без сыворотки, после чего помещали в такую же среду. Через 1,5–2 суток культуральную среду собирали, белки осаждали 10 % ТХУ в присутствии 0,015 % дезоксихолата натрия. После разделения белков в 10 % денатурирующем полиакриламидном геле [5] проводили Вестерн-блот анализ согласно online протоколу фирмы Millipore (millipore.com/immunodetection/id3/westernblotting), используя козы поликлональные антитела против рекомбинантного FGF2 человека и конъюгат антител к IgG козы, полученных в кролике, с пероксидазой хрена (Sigma, США). Микроинкапсуляцию клеток в альгинатном геле проводили следующим образом [6]: отмытые фосфатным буфером (pH 7,4) клетки CHO-K1 (10^7) смешивали с 1,5 % альгинатом натрия, растворенным в физиологическом растворе (0,9 % NaCl). Используя шприц с иглой 29 g, капельно вносили в 102 mM раствор $CaCl_2$. Через 30 мин раствор $CaCl_2$ удаляли, трижды отмывали фосфатным буфером, один раз средой F10. Для изучения секреции FGF2 микрокапсулы культивировали в среде F10 без эмбриональной сыворотки.

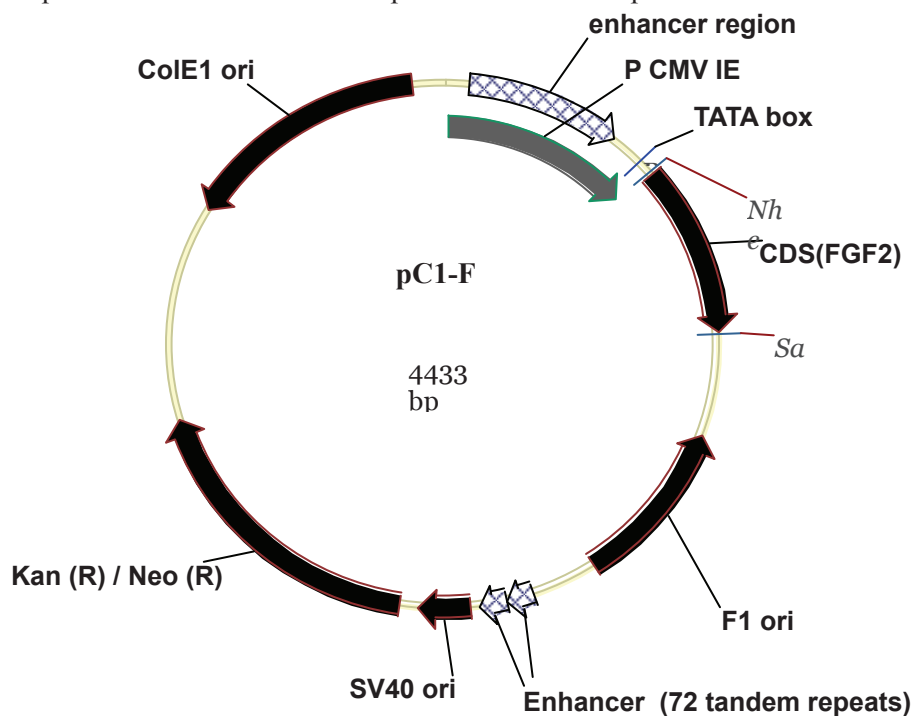


Рис.1 Физическая карта pC1-F

Результаты и обсуждение

Первым этапом исследования было конструирование вектора, с помощью которого планировалось генетически модифицировать клетки CHO-K1, обеспечив экспрессию рекомбинант-

ного FGF2 человека. Для обеспечения эффективной экспрессии к-ДНК гена FGF2 была помещена код контроль сильного конститутивного промотора, которым является промотор цитоме-

галовируса, в векторе pEGFP-C1 (Clontech). Генетически модифицированная линия CHO-K1 была получена путем трансфекции клеток полученной плазмидой (pC1-F) с помощью полиэтиленэмина (25 кДа) с последующим отбором стабильных трансформантов на антибиотике G418. Наличие экспрессии FGF2 на уровне транскрипции внесенной в генетическую конструкцию последовательности было проверено с помощью ОТ-ПЦР в клетках полученной трансгенной линии. Как видно, обратнo-транскриптазная реакция на матрице, выделенной из генетически модифицированных клеток CHO-K1 мРНК, с последующей ПЦР приводит к появлению полно-размерной к-ДНК FGF2 в отличие от клеток исходной линии CHO-K1 (рис. 2, а). Этот факт свидетельствует о наличии экспрессии трансгена в полученных клетках. Известно, что ген FGF2 не имеет последовательности, которая кодирует сигнальный пептид, и белок секретируется неканоническим путем – не через аппарат Гольджи [7], поэтому можно было ожидать, что экспрессируемый белок будет секретироваться в культуральную среду.

Вестерн блот-анализ культуральной среды, в которой культивировались генетически модифицированные клетки, выявил несколько позитивных сигналов, основные из которых со-

ответствуют молекулярной массе немного выше 55 кДа и около 35 кДа. Молекулярная масса изоформы FGF2, которая использована в данном исследовании, составляет 18 кДа и совпадает с молекулярной массой рекомбинантного белка, полученного в *E. coli*, поскольку, как известно FGF2 человека негликозилированный. Возможно, исходя из известных данных о связывании FGF2 со специфическими белками-партнерами [8–10] он секретируется в виде комплексов. В модельных экспериментах нами показано, что он взаимодействует с компонентами эмбриональной телячьей сыворотки, которая несмотря на отмывание клеток, присутствует в среде. Известна склонность FGF2 к олигомеризации [11].

Эффективность инкапсуляции клеток CHO-K1 в альгинатный гель и их жизнеспособность в микрокапсулах была проверена на клетках, трансфецированных pC1EGFP, в которых наблюдается экспрессия флуоресцирующего зеленого белка (рис. 3, б). Методом микрокопирования было показано, что, по крайней мере, в течение недели клетки сохраняют способность к экспрессии GFP. Известно, что долговечность и прочность альгинатных микрокапсул увеличивается при покрытии их поликатионами, в частности, поли-L-орнитином [12].

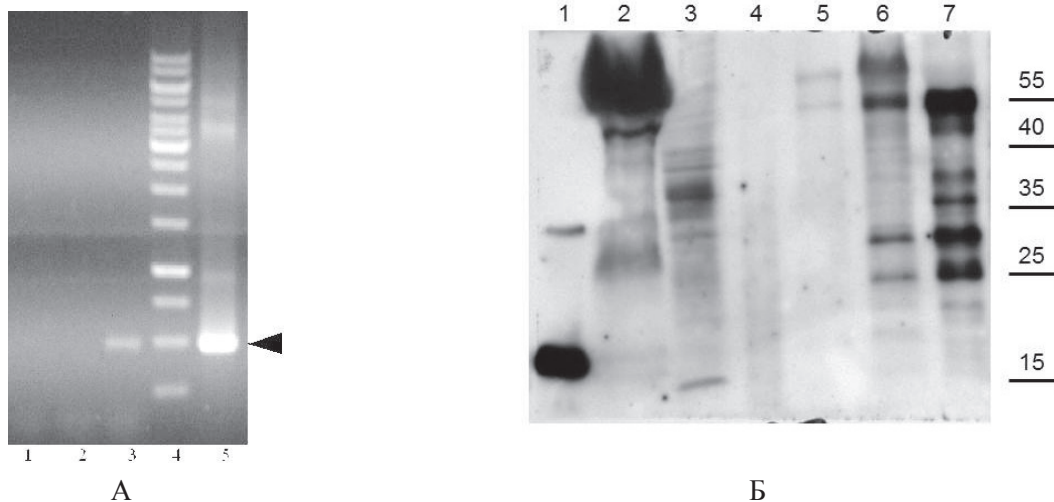


Рис 2. Экспрессия FGF2 в генетически модифицированных клетках CHO-K1: А – Электрофоретическое разделение продуктов ОТ-ПЦР (стрелкой отмечен продукт амплификации последовательности FGF2): 1 – исходные клетки CHO-K1, 2 – клетки CHO-K1, трансфецированные «пустым» вектором pC1EGFP, 3 – клетки, трансфецированные pC1-F, 4 – 1kb DNA ladder (Fermentas), 5 – положительный контроль (ДНК pC1-F); Б – Вестерн блот анализ лизатов клеток CHO-K1, трансфецированных pC1FGF2, и сред, в которых они культивировались: 1 – рекомбинантный FGF2 (20нг), 2 – среда, в которой культивировались инкапсулированные в альгинатные микрокапсулы клетки CHO-K1, трансфецированные pC1-F, 3 – лизат клеток CHO-K1, трансфецированных pC1-F, 4 – среда, в которой культивировались клетки CHO-K1, трансфецированные pC1EGFP, 6, 7 – среды, в которых культивировались клетки, трансфецированные pC1-F.

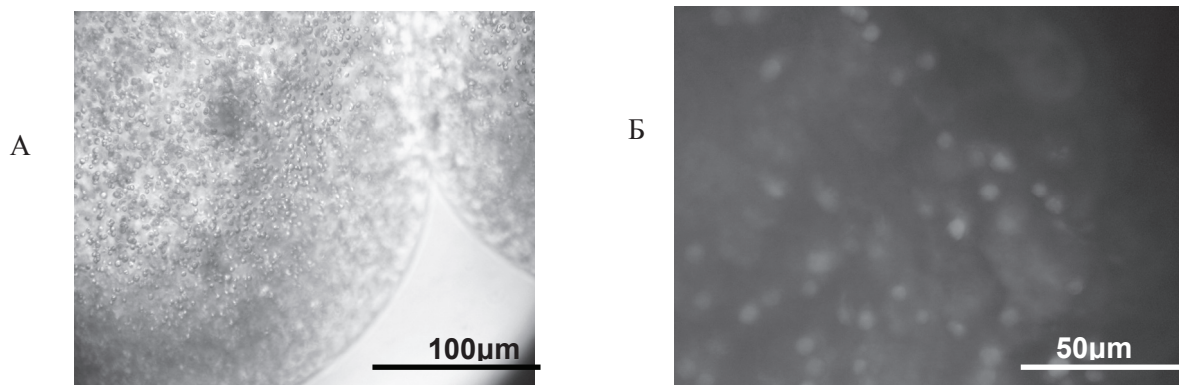


Рис. 3. Клетки CHO-K1, трансфицированные pC1EGFP, инкапсулированные в альгинатные микрокапсулы (А – световая микроскопия, Б – флуоресцентная микроскопия)

Вестерн блот-анализ среды, в которой культивировались микрокапсулы с генетически модифицированными клетками CHO-K1, показал, что все сигналы, свидетельствующие об экспрессии FGF2, которые наблюдаются при культивировании трансгенных клеток в монослойной культуре, наблюдаются при культивировании альгинатных микрокапсул с заключенными в них клетками (рис. 2, б, дор. 2).

Таким образом, клетки полученной генетически модифицированной линии CHO-K1 являются источником рекомбинантного FGF2 человека, который секретируется в среду при инкапсуляции таких клеток в альгинатные микрокапсулы. Полученные результаты являются основой для исследований влияния рекомбинантных цитокинов, которые синтезируются живыми инкапсулированными клетками *in vivo*.

Литература

1. Krishnamurthy N.V., Gimi B. Encapsulated cell grafts to treat cellular deficiencies and dysfunction // *Crit Rev. Biomed. Eng.* – 2011. – Vol. 39, №6. – P. 473–491.
2. Hernández R.M., Orive G., Murua A., Pedraz J.L. Microcapsules and microcarriers for *in situ* cell delivery // *Advanced Drug Delivery Reviews.* – 2010. – Vol. 62. – P. 711–730.
3. Yun Y.R., Won J.E., Jeon E., Lee S., Kang W., Jo H., Jang J.H., Shin U.S., Kim H.W. Fibroblast growth factors: biology, function, and application for tissue regeneration // *J. Tissue Eng.* – 2010. – P. 1–18.
4. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. *Molecular cloning* // Cold Spring Harbor Lab. Press. – 1989. – Vol. 1. – P. 568.
5. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.* – 1970. – Vol. 227, № 5229. – P. 680–685.
6. Cohen J., Zaleski K.L., Nourissat G., Yaremchuk M.J. Survival of porcine mesenchymal stem cells over the alginate recovered method // *J. Biomed. Mater. Res. Part A.* – 2010. – 96 A. – P. 93–99.
7. Zehe C, Engling A, Wegehingel S, Schäfer T, Nickel W. Cell-surface heparan sulfate proteoglycans are essential components of the unconventional export machinery of FGF-2 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – Vol. 103. – P. 15479–15484.
8. Soulet F., Bailly K., Roga S., Bouche G. Exogenously added FGF2 to NIH3T3 cells interacts with nuclear ribosomal S6 kinase in cell cycle-dependent manner // *JBC.* – 2005. – Vol. 280. – P. 25604–25610.
9. Bonnet H., Filhol O., Truchet I., Bouche G. FGF2 binds to the regulatory β subunit of CK2 and directly stimulates CK2 activity toward nucleolin // *JBC.* – 1996. – Vol. 271. – P. 24781–24787.
10. Van den Berghe L., Laurell H., Bugler B. FIF, a nuclear putatively antiapoptotic factor, interacts specifically with FGF2 // *Mol. Endocrinol.* – 2000. – Vol. 14. – P. 1709–1724.
11. Herr B., Ornitz D.M., Sasisekharan R., Venkataraman G., Waksman G. Heparin-induced Self-association of Fibroblast Growth Factor-2 // *JBC.* – 1997. – Vol. 272. – P. 16382–16389.
12. Darrabie M.D., Kendall W.F.Jr., Opara E.C. Characteristics of Poly-L-Ornithine-coated alginate microcapsules // *Biomaterials.* – 2005. – Vol. 26, №34. – P. 6846–6852.

RYMAR S.E., RACHKEVICH N.O., KULACHKO A.V., RUBAN T.A., KORDIUM V.A.

Institute of Molecular Biology and Genetics of NASU

Ukraine, 03680, Kyiv, Acad. Zabolotny str., 150, e-mail: s.y.rymar@imbg.org.ua

SI «Institute of Genetic and Regenerative Medicine» NASMU

Ukraine, 04114, Kyiv, Vyshgorodska str., 67

ENCAPSULATED GENETICALLY MODIFIED CELLS OF CHO-K1 AS SOURCE OF HUMAN RECOMBINANT FGF2

The aim of the investigation was to obtain the transgenic mammalian cell line CHO-K1 that expresses recombinant human FGF2 and secretes it into cultural medium and to compare the abilities of a monolayer cell culture and the cells encapsulated in alginate microcapsules to produce and to secrete this protein.

Methods. The non-viral gene transfer method, RT-PCR, Western blot analysis were used for the investigation. **Results.** The expression vector pC1-F contained the recombinant human FGF2 had been constructed. This vector was used for the CHO-K1 cells transfection. As a result, a stable transgenic cell line expressing FGF2 was obtained. A few positive signals were detected via Western blot analysis of the conditioned cultural media. The same protein products were revealed in a case of the conditioned cultural media where alginate microcapsules with the transgenic cells had been cultivated. **Conclusion.** Thus the obtained genetically modified CHO-K1 cells remain a source of the recombinant human FGF2 after their encapsulation in alginate microcapsules.

Key words: recombinant human FGF2, transfection, encapsulation, alginate microcapsule.

СОСНІНА К.О.

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»

Україна, 79000, м. Львів, вул. Лисенка 31-а, e-mail:katja.sosnina@gmail.com

ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ІНСЕРЦІЯ/ДЕЛЕЦІЯ 14 П.Н. ГЕНА НЕКЛАСИЧНОГО АНТИГЕНА HLA-G ПРИ НАВИКОВОМУ НЕВИНОШУВАННІ ВАГІТНОСТІ НЕЗ'ЯСОВАНОГО ГЕНЕЗУ

Однією із центральних проблем імунології репродукції є дослідження імунних процесів, що забезпечують нормальний перебіг вагітності та народження дитини, а також з'ясування патологічних механізмів, що призводять до втрати вагітності [15]. Чисельні дослідження показують, що успішна імплантація та розвиток плода відбуваються завдяки еволюційно виробленим імунним механізмам, котрі захищають плід, в тому числі, і від згубної дії материнської імунної системи. Один із таких механізмів полягає у включенні на самих ранніх етапах онтогенезу людини унікальних генів HLA-системи, так званих неklasичних генів Ib класу HLA-G, HLA-E, HLA-F [4, 10, 15].

Відомо, що на ембріональних клітинах класичні антигени HLA I-го та II-го класу не експресуються і це запобігає конфлікту між HLA-напівчужерідними клітинами плода та імунною системою матері [8, 9, 17, 11]. Тим не менше, існує інша небезпека – клітини, позбавлені HLA-антигенів на поверхні, можуть зазнавати НК-опосередкованого лізису. Але цьому запобігають неklasичні HLA-антигени:

сильна експресія молекул HLA-G на клітинах цитотрофобласту разом з експресією HLA-E та HLA-F в плаценті перешкоджає НК-опосередкованого лізису ембріональних клітин [3, 5, 15].

Найбільш вивченими неklasичними HLA-антигенами є антигени класу G. Зокрема, першою вивченою та найбільш дослідженою функцією HLA-G молекул є інгібування НК і T-опосередкованого лізису клітин за рахунок прямої взаємодії з рецепторами ILT2 і ILT4 та KIR2DL4. Експресія HLA-G на трофобласті може протистояти імунному нагляду клітин НК, а також інгібувати їх трансдотеліальну міграцію. HLA-G, взаємодіючи з ILT-2 та/або іншими гальмівними рецепторами НК-клітин, впливає на експресію адгезивних молекул на НК клітинах. Ці дані вказують на те, що антигени HLA-G на материнсько-плодовому бар'єрі можуть запобігати трансплацентарній міграції маткових НК клітин, а також нейтралізувати накопичені НК клітини через взаємодію з їхніми кілерінгібіторними рецепторами [1,11]. Іншою функцією HLA-G є регулювання цитотоксичної

відповіді Т-клітин через супресію проліферації Т-лімфоцитів. Антиген HLA-G може також впливати на цитотоксичні Т-лімфоцити та маткові НК клітини, змінюючи їх цитокіновий профіль [2, 3, 6].

З накопичених даних про функцію HLA-G, як важливого чинника у модуляції материнської імунної системи під час вагітності [3, 13, 16], зрозуміло, що будь які зміни, що призводять до аномальної експресії даного гена, можуть бути задіяні в репродуктивній невдачі. Описані поліморфізми в регуляторній області гена *HLA-G* впливають на експресію даного гена, і тому можуть асоціюватись з репродуктивними втратами [2, 4, 10, 12]. Цікавим і мало вивченим з цієї точки зору є поліморфізм інсерція/делеція 14 п.н. (5'-ATTTGTTTCATGCCT-3') в 3'UTR, що локалізується в позиції 3741 8 екзона гена *HLA-G*. Вперше даний поліморфізм був описаний в 1993 р. Харрісоном і його колегами [7], але ли-

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження слугувала ДНК 40 жінок ідіопатичним навиковим невиношуванням вагітності, 135 зразків ДНК, виділених з ворсин хоріона мимовільно елімінованих ембріонів та 40 зразків ДНК жінок контрольної групи з щонайменше 2-ма здоровими дітьми. Виділення та очищення ДНК з лейкоцитів периферійної крові проводили методом висолювання. З ворсин хоріона ДНК виділяли за допомогою методу фенольної екстракції. Детекції поліморфізму інсерція/делеція 14 п.н. 3'UTR гена *HLA-G* проводили за допомогою полімеразної ланцюгової реакції. ПЛР проводили в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» (ДНК-технологія, Росія). Продукти ампліфікації візуалізували шляхом проведення електрофоре-

Результати та обговорення

Генотипування поліморфізму інсерція/делеція 14 п.н. 3'UTR гена *HLA-G* було вперше проведено у Україні та вперше у світі на матеріалі мимовільно елімінованих ембріонів. Досліджувану групу склали жінки з ранніми 2–3 разовими репродуктивними втратами нез'ясованого генезу, які звернулися для медико-генетичного консультування у Львівський міжобласний медико-генетичний центр. Всебічні клінічні, лабораторні та медико-генетичні обстеження цих жінок дозволили поставити діагноз «ідіопатичне навикове невиношування вагітності». Всього обстежено 40 жінок

ше нещодавно був показаний вплив розміру мРНК транскрипту на стабільність білка HLA-G [12, 14]. Наявність алеля з інсерцією 14 п.н. спричиняє видалення 92 п.н. в 3'UTR з мРНК, можливо тому, що він діє як прихований сайт сплайсингу. В послідовності з 14 нуклеотидів є ініціаторний пентаметр AUUUG, що імовірно бере участь в деаденілюванні і подальшому розпаді мРНК. Відсутність такого мотиву в транскрипті з делетованими 92 нуклеотидами може забезпечувати більшу стабільність мРНК [20]. Оскільки поліморфізм інсерція/делеція 14 п.н. 3'UTR безпосередньо впливає на рівень експресії гена *HLA-G* [18, 19], і таким чином може мати значення для пролонгування вагітності метою даного дослідження було встановити розподіл та частоту даного поліморфізму у жінок з ідіопатичним навиковим невиношуванням вагітності та у матеріалі мимовільно елімінованих ембріонів.

зу в 2 % агарозному гелі, який містив бромистий етидій та сканували на ультрафіолетовому транслюмінаторі «ECX-15. M» (VILBER LOURMAT, Франція). 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.

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 з ризиком репродуктивних втрат оцінювали за допомогою розрахунку коефіцієнту шансів (Odds ratio, OR) з 95 % довірчим інтервалом.

з навиковим невиношуванням вагітності (ННВ), 135 мимовільно елімінованих ембріонів людини 5-12 тижнів гестації та 40 репродуктивно здорових жінок.

Першим етапом роботи було встановлення частоти та розподілу генотипів поліморфізму інсерція/делеція 14 п.н. 3'UTR гена *HLA-G* у жінок з ідіопатичним ННВ. Отримані результати представлені у таблиці 1. Розподіл генотипів у дослідній та контрольних групах відповідав рівновазі Харді-Вайнберга. У групі жінок з ННВ, як і у контрольній групі з найвищою частотою зустрічається гетерозиготний генотип за

поліморфізмом інсерція/делеція 14 п.н. (50 % та 65 % відповідно). Частота гомозиготного генотипу за алелем делеція (D) у дослідній групі жінок склала 22,5 % у порівнянні з трохи вищою

його частотою у контролі – 25 %. Гомозиготний генотип за алелем інсерція (I) 14 п.н. зустрічався у 11 (27,5 %) жінок з ННВ, що майже втричі більше від показника у контролі (10 %).

Таблиця 1. Аналіз розподілу поліморфізму інсерція/делеція 14 п. н. 3'UTR гена *HLA-G* у жінок з ННВ

Генотип	Жінки ННВ (n=40)			Контрольна група (n=40)			χ^2	P	OR(CI)
	n	%	HWE (p=1)	n	%	HWE (p=0.16)			
I/I	11	27,5	0.276	4	10	0.181	4,021	<0,05	3.4138 (1.065 – 11.8502)
D/I	20	50	0.499	26	65	0.489	1,841	>0,05	0.5385 (0.2194 – 1.3218)
D/D	9	22,5	0.226	10	25	0.331	0,069	>0,05	0.871 (0.3106 – 2.4422)

Провівши статистичну обробку даних з використанням критерію Пірсона χ^2 , показано вірогідно значиме зростання частоти гомозиготного генотипу за алелем інсерція (I) 14 п.н. ($\chi^2=4,021$, $P<0,05$) у групі жінок з ННВ у порівнянні з контрольною групою. Розрахунок коефіцієнту шансів (OR-odds ratio) показав зростання більше, ніж у 3-и рази ризику невиношування вагітності у жінок-носіїв гомозиготного генотипу за алелем інсерція (I) 14 п.н 3'UTR гена *HLA-G* (OR=3.41 CI-95 %: 0.98–11.85).

Наступним етапом дослідження було

проаналізувати розподіл та частоту генотипів поліморфізму інсерція/делеція 14 п.н. 3'UTR гена *HLA-G* у матеріалі мимовільно елімінованих ембріонів у порівнянні з контрольною групою. Отримані результати представлені у таблиці 2. Розподіл генотипів у дослідній та контрольних групах відповідав рівновазі Харді-Вайнберга. Серед досліджуваної групи, яку склали 135 спонтанно елімінованих ембріона 5–12 тижнів гестації з найвищою частотою зустрічався гетерезиготний генотип за даним поліморфізмом (47,7 %).

Таблиця 2. Аналіз розподілу поліморфізму інсерція/делеція 14 п. н. 3'UTR гена *HLA-G* у матеріалі мимовільно елімінованих ембріонів

Генотипи	Спонтанно еліміновані ембріони (n=135)			Контрольна група			χ^2	P	OR(CI)
	n	%	HWE (p=0.76)	n	%	HWE (p=0.14)			
I/I	38	28.8	0.277	7	13	0.198	5.233	<0.025	2.71 (1.13 – 6.54)
I/D	63	47.7	0.499	34	63	0.494	4.1	<0.05	0.54 (0.28 – 1.03)
D/D	31	23.5	0.224	13	24	0.309	0.027	>0.05	0.97 (0.46 – 2.03)

Частота гомозиготного генотипу за алелем делеція (D) 14 п.н. склала 23,5 %, що не відрізняється від його частоти в контролі (24 %). Гомозиготний генотип за алелем інсерція (I) 14 п.н. зустрічався у 2 рази частіше у групі спонтанно елімінованих ембріонів у порівнянні з контрольною групою (28,8 % та 13 % відповідно). Статистичне опрацювання отриманих результатів з використанням критерію Пірсона (χ^2) показало статистично вірогідне

підвищення частоти гомозиготного генотипу за алелем інсерція 14 п.н. у групі спонтанно елімінованих ембріонів у порівнянні з контрольною групою ($\chi^2 =5,23$; $p<0.025$). Розрахунок коефіцієнту шансів (Odds ratio, OR) з 95% довірчим інтервалом показав зростання у 2,7 разів ризику виникнення навикового невиношування вагітності у носіїв гомозиготного генотипу за алелем інсерція 14 п.н. (OR=2.71, CI 95%: 1.13 – 6.54).

Враховуючи отримані результати щодо розподілу та частоти генотипів поліморфізму інсерція/делеція 14 п.н. 3'UTR гена *HLA-G* у жінок з ННВ та в матеріалі мимовільно

елімінованих ембріонів, можемо припускати, що поліморфізм, який безпосередньо впливає на експресію гена *HLA-G*, може мати значення для пролонгування вагітності.

Висновки

1. У групі жінок з ідіопатичним навиком невиношуванням вагітності встановлено статистично вірогідне підвищення частоти гомозиготного генотипу за алелем інерція (I) 14 п.н. гена *HLA-G* у порівнянні з контрольною групою.

2. У матеріалі мимовільно перерваних ембріонів гомозиготний генотип за алелем інерція 14 п.н. гена *HLA-G* статистично вірогідно підвищений у порівнянні з контроль-

ною групою.

3. Розрахунок коефіцієнту шансів показав у 3 рази збільшення ризику ранньої втрати вагітності у жінок носіїв генотипу I/I, а також збільшення ризику у 2,7 рази при наявності даного генотипу у ембріона.

4. Припускаємо, що поліморфізм інсерція/делеція 14 п.н. 3'UTR гена *HLA-G* має значення для пролонгування вагітності.

Література

1. Abbas A., Tripathi P., Naik S. Analysis of human leukocyte antigen (HLA)-G polymorphism in normal women and in women with recurrent spontaneous abortions // *Eur J Immunogenet.* – 2004. – №31. – P. 275–278.
2. Aruna M., Sirisha P.V. Role of 14-bp insertion/deletion polymorphism in HLA-G among Indian women with recurrent spontaneous abortions // *Tissue Antigens.* – 2011. – Vol. 2, №77. – P. 131–13.
3. Carosella E.D., Dausset J. Immunotolerant functions of HLA-G // *Cell Mol Life Sci.* – 1999. – Vol. 3, № 55. – P. 327–333.
4. Castro M.J., Morales P. Evolution of MHC-G in humans and primates based on three new 3'UT polymorphisms // *Hum Immunol.* – 2000. – Vol. 5, №61. – P. 1157–1163.
5. Clements C.S., Kjer-Nielsen L., Kostenko L. Crystal structure of HLA-G: a nonclassical MHC class I molecule expressed at the fetal-maternal interface // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2005. – Vol. 10, №102. – P. 3360–3365.
6. Dara S., Hogge A. Comprehensive Analysis of HLA-G: Implications for Recurrent Spontaneous Abortion // *Reproductive Sciences.* – 2010. – Vol. 17, №4. – P. 331–338.
7. Harrison G.A., Humphrey K. E., Jakobsen I. B. A 14 bp deletion polymorphism in the HLA-G gene / *Hum. Mol. Genet.* – 1993. – Vol. 2, №220. – P. 45–49.
8. Hunt J.S., Petroff M.G., McIntire R.H. HLA-G and immune tolerance in pregnancy // *The FASEB Journal.* – 2005. – №19. – P. 681–693.
9. Hunt J.S., Langat D.K., R.H McIntire The role of HLA-G in human pregnancy // *Reprod Biol Endocrinol.* – 2006. – Vol. 10, №4 – P. 45–48.
10. Hviid T., Hylenius S. HLA-G polymorphisms in couples with recurrent spontaneous abortions // *Tissue Antigens.* – 2002. – Vol. 60, №2. – P. 122–132.
11. Hviid T.V., Hylenius S., Lindhard A. Association between human leukocyte antigen-G genotype and success of in vitro fertilization and pregnancy outcome // *Tissue Antigens.* – 2004. – Vol. 1, №64. – P. 66–69.
12. Moreau P., Contu L., Alba F. HLA-G Gene Polymorphism in Human Placentas: Possible Association of G*0106 Allele with Preeclampsia and Miscarriage // *Biology of Reproduction.* – 2008. – Vol. 79, №3. – P. 459–467.
13. Ober C., Chervoneva I., Billstrand C. Variation in the HLA-G Promoter Region Influences Miscarriage Rates // *J Hum. Genet.* – 2003. – Vol. 72, №5. – P. 1425–1435.
14. Pfeiffer K.A., Fimmers R. The HLA-G genotype is potentially associated with idiopathic recurrent spontaneous abortion // *Molecular Human Reproduction* – 2001. – Vol.7, №4. – P. 373–378.
15. Raj K., Tripathi P. Role of HLA-G, HLA-E and KIR2DL4 in Pregnancy // *J Hum. Genet.* – 2007. – Vol. 7, №3. – P. 219–233.
16. Tripathi P., Abbas A., Naik S. Role of 14-bp deletion in the HLA-G gene in the maintenance of pregnancy // *Tissue Antigens.* – 2004. – № 64. – P. 706–710.
17. Vauvert T., Hviid F. HLA-G in human reproduction: aspects of genetics, function and pregnancy complications // *Hum. Reprod. Update.* – 2006. – Vol. 12, №3. – P. 209–232.
18. Xue S., Yang J. Recurrent spontaneous abortions patients have more -14 bp/+14 bp heterozygotes in the 3'UT region of the HLA-G gene in a Chinese Han population // *Tissue Antigens.* – 2007. – Vol. 11, №69. – P. 153–155.
19. Yan W.H., Lin A., Chen X.J. Association of the maternal 14-bp insertion polymorphism in the HLA-G gene in women with recurrent spontaneous abortions // *Tissue Antigens.* – 2006. – Vol. 6, №68. – P. 521–523.
20. Zhu Y., Huo Z., Lai J. Case-control study of a HLA-G 14-bp insertion-deletion polymorphism in women with recurrent miscarriages // *Scand J Immunol.* – 2010. – Vol. 1, №71. – P. 52–54.

SOSNINA K.

*Institute of Hereditary Pathology of the Ukrainian National Academy of Medical Sciences
Ukraine, 79000, Lviv, Lysenko str., 31-a, e-mail: katja.sosnina@gmail.com*

THE STUDYING OF HLA-G 14 b.p. INSERTION/DELETION POLYMORPHISM AMONG WOMEN WITH IDIOPATHIC RECURRENT PREGNANCY LOSS (RPL)

The *aim* of this study was to determine the distribution and frequency of HLA-G 14 bp insertion/deletion polymorphism in women with idiopathic recurrent pregnancy loss and in spontaneously aborted embryos. *Methods*. DNA was isolated from the peripheral blood cells and chorionic villi. DNA was subjected to polymerase chain reaction and electrophoresis in 2 % agarose gel. *Results*. Significantly higher HLA-G 14 bp insertion/insertion genotype frequency ($\chi^2 = 4,021$, $P < 0.05$) in group of women with RPL compared to control group was established. Calculation of odds ratio (OR) showed more than 3-fold increase of miscarriage risk in women homozygous for HLA-G 14 bp insertion/insertion genotype (OR = 3.41 CI - 95 %: 1.065–11.85). Significantly higher HLA-G 14 bp insertion/insertion genotype frequency ($\chi^2 = 5.233$, < 0.025) in group of spontaneously aborted embryos was also established and risk of spontaneous abortions in homozygous HLA-G 14 bp insertion/insertion genotype is increased up to 3 times (OR = 2.71, CI-95 %: 1.13–6.54). *Conclusions*. we assume that homozygous HLA-G 14 bp insertion/insertion genotype is one of the risk factors of recurrent pregnancy loss in women.

Key words: idiopathic recurrent pregnancy loss (RPL), HLA-G 14 bp insertion/deletion polymorphism.

ТИРКУС М.Я.

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України»

Україна, 79000, м. Львів, вул. Лисенка, 31-а, e-mail: tyrkus.m@ihp.lviv.ua

ЧАСТОТА МУТАЦІЇ CCR2-64I ГЕНА ХЕМОКІНОВОГО РЕЦЕПТОРА CCR2, ЩО АСОЦІЮЄТЬСЯ З УПОВІЛЬНЕННЯМ ПРОГРЕСУВАННЯ СНІДУ СЕРЕД ЖИТЕЛІВ ЗАХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ

Хемокінами – це секреторні білки, що беруть участь у процесах дозрівання, перенесення і рециркуляції лейкоцитів. Вони також відіграють важливу роль у багатьох патофізіологічних процесах, таких як алергічні реакції, інфекції, аутоімунні захворювання, запальні процеси, розвиток пухлин. Відкриття останніх років виявили тісний зв'язок між хемокінами, хемокіновими рецепторами та ВІЛ-інфекцією. Окрім добре відомої ролі блокування проникнення вірусної частки шляхом зв'язування з рецепторами, роль хемокінів виявилися глибоко залучена в процес патогенезу ВІЛ [1].

Імунологічні або генетичні зміни, які впливають на рівень хемокінів, можуть впливати на сприйнятливість до ВІЛ-інфекції або швидкість прогресування захворювання після інфікування. 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 алельних варіантів суттєво варіюють

у популяціях [2, 3].

Поліморфізми генів рецепторів хемокінів *CCR5* і *CCR2* пов'язані зі стійкістю до ВІЛ-1-інфекції або затримкою розвитку СНІДу. Вивільнення хемокінів є ранньою реакцією на інфікування вірусом, причому мутація *CCR5-del32* гена *CCR-5* асоційована з більш повільною прогресією захворювання, а мутація *CCR2-64I* гена *CCR2* пов'язана зі значним уповільненням падіння імунного статусу [4, 5].

Гомозиготи по мутації *CCR5-del32* гена хемокінового рецептора *CCR5* набувають стійкості до зараження вірусом R5-HIV-1. Гетерозиготи мають в два рази нижчу кількість рецепторів *CCR-5*, що значно сповільнює реплікацію вірусу і прогресію захворювання [5, 6]. Нами проведено молекулярно-генетичне дослідження мутації *CCR5del32* гена рецептора хемокінів *CCR5* серед осіб Західного регіону України. У даній вибірці мутацію *CCR5del32* в гетерозиготному виявлено у 20,37 % осіб. Отримані результати говорять про достатньо високу частоту даної мутації у порівнянні з іншими вибірками України [6, 7, 8].

Хемокіновий рецептор *CCR-2b* є мінорним

корцептором для ВІЛ. Мутація в гені *CCR2* призводить до заміни валіну на ізолеїцин в положенні 64 першого трансмембранного домену рецептора і зустрічається з частотою 10-25% у різних популяціях. Наявність цієї мутації асоційована з затримкою розвитку СНІДу, але механізми захисту незрозумілі, так як рецептор *CCR-2* дуже рідко використовується вірусом як корцептор і мутація не викликає зміни кількості рецепторів *CCR-2* та не впливає на передачу сигналу від *CCR-2*-специфічних лігандів. Показано, що варіант 64I рецептора *CCR-2* може утворювати димери з білком *CXCR-4* (він замінює рецептор *CCR-5*, який може бути основним рецептором для вірусу на пізніх стадіях захворювання), в той час як природнього білока *CCR-2* – немає. Це дозволяє припустити, що

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження слугувала ДНК 147 практично здорових осіб, які є вихідцями і проживають на території Західної України. У досліджуваній групі кількість осіб чоловічої склало 47,6 % та 52,4 % осіб жіночої статі. Вік обстежуваних був у межах від 23 до 43 років. Проводили виділення та очищення ДНК з лейкоцитів периферійної крові методом висолування [10]. Ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro* проводили, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції [11]. ПЛР проводили в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик» (ДНК-технологія, Росія). Для ідентифікації мутацій 64I-*CCR2* застосовували метод рестрикційного аналізу продуктів ПЛР відповідних послідовностей. У

Результати та обговорення

У результаті цієї роботи апробовано методику молекулярно-генетичного дослідження мутації 64I гена рецептора хемокінів *CCR2* (номер поліморфізму в базі даних NCBI – rs1799864) [24]. Для ідентифікації мутацій 64I-*CCR2* застосовували метод рестрикційного аналізу продуктів ПЛР відповідних послідовностей. Електрофореграму молекулярно-генетичного дослідження мутації 64I-*CCR2* наведено на рис. 1.

Проведено молекулярно-генетичне дослідження мутації *CCR2*-64I гена хемокінового рецептора *CCR2* у 147 практично здорових осіб, які є вихідцями і проживають на

CCR2 64I затримує розвиток СНІДу шляхом уповільнення зміни *CCR-5* на *CXCR-4* у пацієнтів, що є переломним моментом у виснаженні CD4 Т-лімфоцитів і початком прояву симптомів СНІДу [9].

Отже, вивчення поширеності даних мутацій та ідентифікація гомо- та гетерозигот серед жителів Західного регіону України є важливим для прогнозування епідеміологічної ситуації щодо ВІЛ/СНІД у майбутньому та дасть можливість використати дані у генно-інженерних розробках ліків та вакцин проти ВІЛ.

Тому, метою даної роботи було встановити частоту мутації *CCR2*-64I гена хемокінового рецептора *CCR2*, що пов'язана зі значним уповільненням падіння імунного статусу серед осіб Західного регіону України.

роботі використовували ендонуклеазу рестрикції *Bse8 I* виробництва фірми НВО "СибЭнзим" (Росія) [12]. Продукти ампліфікації візуалізували шляхом проведення електрофорезу в 2 % агарозному гелі, який містив бромистий етидій та сканували на ультрафіолетовому транслюмінаторі «ЕСХ-15. М» (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.

території Західної України. Отримані результати показали, що у досліджуваній групі мутацію *CCR2*-64I в гетерозиготному стані виявлено у 19 осіб, що становить 12,92 %. Мутацію *CCR2*-64I в гомозиготному стані виявлено у 2 осіб, що становить 1,36 %. Частота алелі 64I становить 7,82 % (23/294) (рис. 2).

Проведено розподіл гетерозиготних носіїв мутації *CCR2*-64I гена хемокінового рецептора *CCR2* відносно статі. У жінок мутацію *CCR2*-64I в гетерозиготному стані виявлено у 13 із 77 осіб, що становить 16,9 %, у чоловіків мутацію *CCR2*-64I в гетерозиготному стані виявлено у 6 із 70 осіб, що становить 8,6 %.

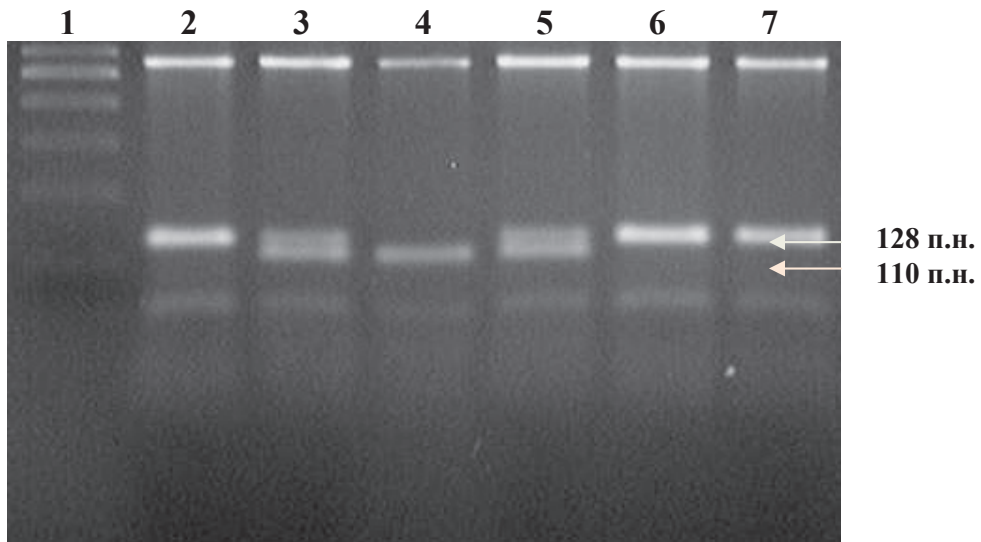


Рис.1. Електрофореграма ПЛР реакції (2 % агарозний гель): 1 – маркери молекулярної ваги; 2, 6, 7 – відсутність мутації CCR2-64I; 3, 5 – гетерозиготи за мутацією CCR2-64I; 4 – гомозигота за мутацією CCR2-64I

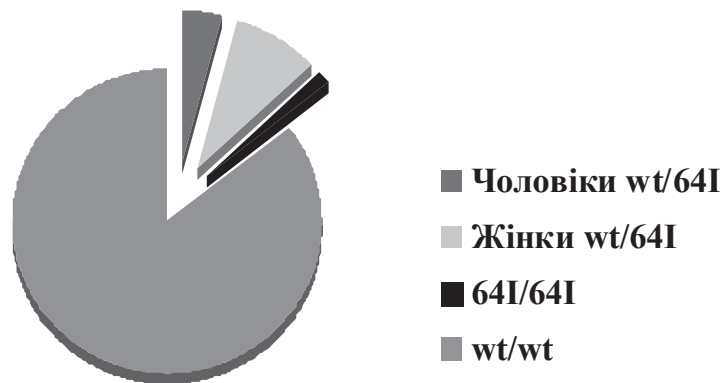


Рис. 2. Частота мутації CCR2-64I гена хемокінового рецептора CCR2 у осіб досліджуваної групи

Отже, мутацію CCR2-64I в гетерозиготному стані у жінок детектували в двічі частіше ніж у чоловіків

Враховуючи результати попередніх досліджень, виявлено одну компаунд гетерозиготу за мутаціями CCR5del32/CCR2-64I [6]. Зокрема, частота мутації CCR5del32 гена хемокінового рецептора CCR5 серед осіб Західного регіону України є достатньо високою та становить 20,37 % .

Отримані результати що до поширеності мутації CCR2-64I гена рецептора хемокінів CCR2 серед осіб Західного регіону України є співмірними у порівнянні з іншими європейськими етнічними групами [13, 14] і відносить обстежену популяцію до таких, де з

середньою частотою виявляється дана мутація. З найвищою частотою >35 % мутація CCR2-64I зустрічається в південно-сахарських африканських популяціях, а також з досить високою частотою у азіатських популяціях. З нижчою частотою мутація CCR2-64I наявна у європейських, кавказьких та американських етнічних групах (10–25 %). Самі найнижчі частоти даної мутації в тихоокеанських острівних популяціях.

Отже, дані щодо поширення протекторних алелів серед жителів Західного регіону України дозволять спрогнозувати епідеміологічну ситуацію щодо ВІЛ/СНІД у майбутньому. Дані про генетично зумовлену індивідуальну стійкість чи навпаки підвищену чутливість до ВІЛ можуть бути використаними для розрахунку коефіцієнту

відносного ризику розвитку СНІД і смерті в результаті СНІД для кожної популяції. Результати досліджень у подальшому можна бути викорис-

тано у генно-інженерних розробках ліків та вакцин проти ВІЛ.

Висновки

1. У дослідженій групі жителів Західної регіону України мутацію CCR2-64I в гетерозиготному стані виявлено 12,92 %.

2. Мутацію CCR2-64I в гомозиготному стані виявлено у 2 осіб, що становить 1,36 %.

3. Мутацію CCR2-64I в гетерозиготному стані у жінок детектували в двічі частіше, ніж у чоловіків.

4. Отримані результати щодо частоти мутації CCR2-64I гена рецептора хемокинів CCR2 у осіб Західного регіону України є співмірними з іншими європейськими етнічними групами і відносить обстежену популяцію до таких, де з середньою частотою виявляється ця мутація.

Література

1. Frade J.M., Llorente M., Mellado M. The amino-terminal domain of the CCR2 chemokine receptor acts as coreceptor for HIV-1 infection // *J. Clin Invest.* – 1997. – Vol. 100. – P. 497–502.
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. Analysis of CCR5Delta32 geographic distribution and its correlation with some climatic and geographic factors // *Hum Hered.* – 2002. – Vol. 53, №1. – P. 49–54.
4. Martinson J.J., Hanga L., Karanicolas R. Global distribution of the CCR2-64I/CCR5-59653T HIV-1 disease-protective haplotype // *AIDS.* – 2000. – Vol. 14. – P. 483–489.
5. Allers K., Hütter G. Evidence for the cure of HIV infection by CCR5Δ32/Δ32 stem cell transplantation // *Blood – Journal of The American Society of Hematology.* – 2011. – Vol. 117, №10. – P. 2791–2799.
6. Тиркус М.Я., Макух Г.В., Акопян Г.Р. Частота мутації CCR5del32 гена хемокинового рецептора CCR5 серед жителів Західного регіону України // *Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр.* – 2012. – Т. 3. – С. 386–390.
7. Лившиць Л.А., Пампуха 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.
8. Довженко С.П., Подольська С.В., Горовенко 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.
9. Winkler C.A., Hendel N., Carrington M. Dominant Effects of CCR2–CCR5 Haplotypes in HIV-1 Disease Progression // *J. Acquir Immune Defic Syndr.* – 2004. – Vol. 37. – P. 1534–1538
10. 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.
11. Mc. Pherson M.J., Quirke P., Taylor G.R. PCR a Practical Approach. Oxford University press // New York: Oxford University press, 1993. – 253 p.
12. Acosta A.X., Sampaio R.G., Spinola J.L. Distribution of the CCR2-64I allele in three Brazilian ethnic groups // *Genet. and Mol. Biol.* – 2003. – Vol. 26, №3. – P. 241–243.
13. Кофиади И. А., Ребриков Д.В., Трофимов Д. Ю. Распределение аллелей генов CCR5, CCR2, и SDF1 ассоциированных с устойчивостью к ВИЧ-инфекции в российских популяциях // *Докл. Акад. Наук.* – 2007. – Т. 415, № 6. – С. 320–323.
14. Ioannidis J.P.A., Rosenberg P.S., Goedert J.J. Effects of CCR5-D32, CCR2-64I, and SDF-1 3*A Alleles on HIV-1 Disease Progression: An International Meta-Analysis of Individual-Patient Data / Ioannidis J.P.A. [et al.] // *Annals of Internal Medicine.* – 2001. – Vol. 135, №9. – P. 782–785.

TYRKUS M.

*Institute of Hereditary Pathology of the Ukrainian National Academy of Medical Sciences
Ukraine, 79000, Lviv, Lysenko str., 31-a, e-mail: tyrkus.m@ihp.lviv.ua*

FREQUENCY OF MUTATION CCR2-64ICHEMOKINE GENE RECEPTOR, WHICH IS ASSOCIATED WITH DELAYED PROGRESSION TO AIDS IN PEOPLE FROM WESTERN REGION OF UKRAINE

Aims. The rate of progression of HIV-1 disease exhibits a remarkable variation among different individuals. Several natural polymorphisms in the genes for the human CC-chemokine receptors CCR5 and CCR2 are

associated with HIV-1 disease. associated with a delayed progression to disease. The aim of this study was to determine the frequency of chemokine receptor gene mutation CCR2-64I in people from Western region of Ukraine. **Methods.** DNA from the above samples was isolated using a modified salting out method. Extracted DNA was amplified by Polymerase chain reaction (PCR). The PCR products were subsequently digested with the restriction enzyme Bse8 I and subjected to electrophoresis in a 2 % agarose gel. **Results.** A molecular genetic study of chemokine receptor gene mutation CCR2-64I performed in 147 people from Western region of Ukraine. The frequency of CCR2-64I heterozygote was 12.92 % and the frequency of CCR2-64I homozygous was 1.36 % in the studied group. CCR2-64I mutation were more frequently in group of women (16.9 %) than in group of men (8.6 %). **Conclusions.** The results show relatively high genetic resistance to HIV infection in people from Western region of Ukraine. **Key words:** HIV infection, chemokine receptor, mutation.

УТЕВСКАЯ О.М.^{1,2}, **АГДЖОЯН А.Т.**^{3,2}, **ПШЕНИЧНОВ А.С.**², **ДИБИРОВА Х.Д.**^{2,3},
ЧУХРЯЕВА М.И.³, **АТРАМЕНТОВА Л.А.**¹, **БАЛАНОВСКАЯ Е.В.**², **БАЛАНОВСКИЙ О.П.**^{3,2}

¹ Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина
Украина, 61022, Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: outevsk@yandex.ru

² Медико-генетический научный центр РАМН
Россия, Москва

³ Институт общей генетики им.Н.И. Вавилова РАН
Россия, Москва

СХОДСТВО УКРАИНСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ТЕРРИТОРИАЛЬНЫХ ПОДРАЗДЕЛЕНИЙ ПО МАРКЕРАМ Y-ХРОМОСОМЫ

Начиная с XIII в. и вплоть до середины XX в. некоторые части украинской территории, сохранявшие славянское население Киевской Руси, находились в составе различных политических образований: западные территории - Волынь и Галиция - входили в состав Литовского государства, Речи Посполитой, Польши; территория Закарпатья входила в состав Венгерского королевства, Австро-Венгрии; Буковина была частью Молдавского княжества, Австро-Венгрии и Румынии; центральные районы Украины и Слобожанщина заселялись мигрантами из западных областей Украины в XV–XVII вв.;

Материалы и методы

В период с 2001 по 2011 гг. был проведен ряд экспедиций по сбору биологического материала среди коренных украинцев. Выбирались регионы, где украинское население наименее подверглось метисации, поэтому обследуемая территория охватывала западные, центральные, северные и северо-восточные части Украины. Сбор материала (венозная кровь, 13 мл) проводился на базе районных больниц и поликлиник; донорами были жители небольших населенных пунктов – неродственные друг другу мужчины, коренные украинцы, предки которых по отцовской и материнской линиям до 3-го поколения относились к украинскому этносу и проживали в

восточные и центральные регионы с XVIII в. входили в состав Российской империи. Сложные популяционно-демографические процессы определили подразделение современной Украины на ряд исторических областей, что могло привести и к генетической дифференциации украинских популяций. Целью данной работы было сравнить генетическое разнообразие региональных подразделений в пределах украинского этноса по гаплогруппам Y-хромосомы, полиморфизм которой является наиболее эффективным маркером для разграничения близких популяций [1, 2].

данном районе (области). Каждый донор подписал информированное согласие на исследование. При исследованиях соблюдена полная анонимность.

ДНК из донорской крови выделена фенол-хлороформным методом. Определение эффективной концентрации ДНК проводилось методом ПЦР в реальном времени с использованием набора Quantifiler Human DNA Kit (Applied Biosystems) на амплификаторе ABI 7900HT (Applied Biosystems). Образцы ДНК от 1197 украинцев из 13 популяций, представляющих основные исторические территории Украины (Закарпатье, Волынь, Галиция, Буковина, Полесье,

Поднепровье, Слобожанщина, Запорожье), были генотипированы более чем по 30 различным SNP маркерам Y-хромосомы, маркирующим основные гаплогруппы и их субветви. Генотипирование проводилось методом ПЦР в реальном времени на амплификаторе ABI 7900 (Applied Biosystems) с использованием набора TaqMan зондов на SNP-маркеры (Applied Biosystems).

На основании частот гаплогрупп Y-хромосомы, определенных для каждой попу-

Результаты и обсуждение

Около 90 % украинского генофонда составляют 7 основных гаплогрупп Y-хромосомы: **R1a1a (M198)**, **I2a1 (P37)**, **R1a1a1g (M458)**, **R1b1a2 (M269)**, **E1b1b1a1 (M78)**, **I1(M253)**, **N1c1(M178)**. Оставшаяся часть генофонда представлена 25 редкими гаплогруппами. Спектр и

частоты гаплогрупп Y хромосомы среди коренного населения Украины соответствуют генетической картине Восточной Европы [4–6]. Частотные распределения гаплогрупп Y-хромосомы в различных украинских популяциях были сходными между собой (рис. 1).

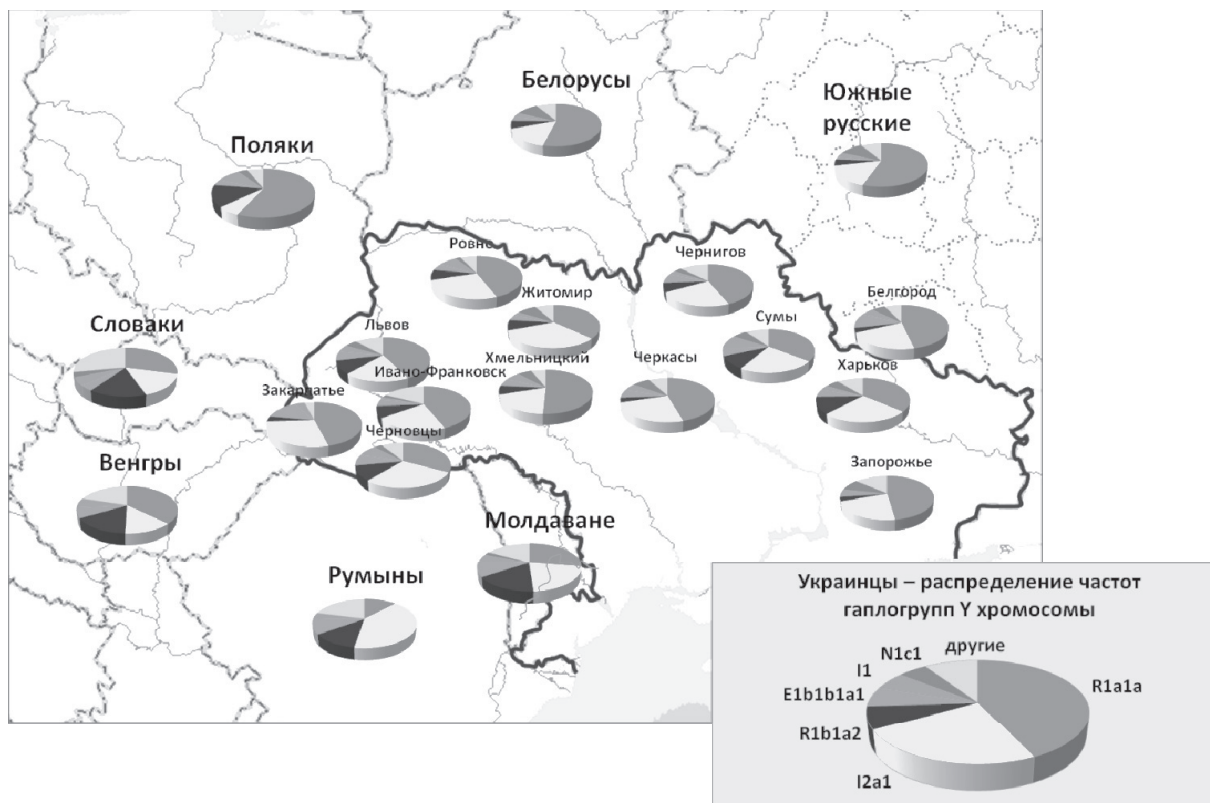


Рис. 1. Частотные распределения основных гаплогрупп Y-хромосомы в украинских и соседних популяциях

На графике многомерного шкалирования (рис. 2), который был построен на основании матрицы межпопуляционных генетических расстояний, украинские популяции не образуют кластеров, отражающих крупные региональные объединения (например, запад, север и восток Украины). Географически удаленные популяции

могут располагаться рядом (например, популяции из Хмельницкой и Белгородской областей), а территориально близкие популяции – быть генетически отделенными (например, популяции из Харьковской и Белгородской областей). Выявляются несколько небольших кластеров из 2–3 географически соседствующих популяций,

соответствующие таким историческим территориям, как Галиция, Волынь, Среднее Поднепровье, Слобожанщина.

В большинстве случаев степень генетических различий популяций положительно коррелирует с географическим расстоянием между ними. Подобная картина была бы вполне ожидаема и для украинских популяций, распространенных в пределах однородного географического ландшафта, без высоких горных массивов и водных преград. Однако, коэффициент корреляции, рассчитанный на основании генетических и географических расстояний между украинскими популяциями, оказался практически равным нулю и статистически незначимым ($r_s = -0,03$; $p > 0,05$). То есть, географическое расстояние между украинскими популяциями не

определяет генетического сходства или различия между ними. По-видимому, исторически документированные миграции мужского населения в пределах украинской территории (украинское казачество, заселение освобожденных от кочевников восточных территорий) были интенсивными, разнонаправленными и разнопротяженными. В итоге высокая подвижность населения привела к гомогенности современного украинского генофонда. При этом даже популяции на периферии этнического ареала, которые относятся/относились к зонам смешения (Закарпатье, Буковина, Слобожанщина), по спектру и частотам гаплогрупп Y-хромосомы характеризуются более высоким генетическим сходством с остальными украинскими популяциями, чем с соседними этносами (рис. 1).



Рис. 2. График многомерного шкалирования, отражающий взаиморасположение украинских популяций в зависимости от генетического сходства по маркерам Y-хромосомы

Выводы

Украинские популяции, относящиеся к различным историко-территориальным объединениям, являются гомогенными по маркерам Y-

хромосомы и характеризуются более высоким генетическим сходством друг с другом, чем с соседними этническими группами.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 10-04-01603а, 10-07-00515а, 12-04-31732 мол а, 12-06-90901-моб_снг_ст, 12-06-90818-мол_рф_нр, Фонда фундаментальных исследований ХНУ.

Литература

1. Underhill P.A., Passarino G., Lin A.A., Shen P., Mirazon L.M., Foley R.A., Oefner P.J., Cavalli-Sforza L.L. The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations // Ann. Hum.

Genet. – 2001. – Vol. 65. – P. 43–62.

2. Степанов В.А., Харьков В.Н., Пузырев В.П. Эволюция и филогеография линий Y-хромосомы человека // Вестник ВОГИС – 2006. – Т.10, №1. – С. 57–73.
3. Nei M. Molecular evolutionary genetics. New York: Columbia Univ.Press, 1987.– 512 p.
4. Semino O., Passarino G., Oefner P.J., Lin A.A., Arbuzova S., Beckman L.E., De Benedictis G., Francalacci P. et al. The genetic legacy of paleolithic Homo sapiens sapiens in extant Europeans: a Y chromosome perspective // Science. – 2000. – Vol. 290, №5494. – P. 1155–1159.
5. Novelletto A. Y chromosome variation in Europe: Continental and local processes in the formation of the extant gene pool // Annals of Human Biology. – 2007. – Vol. 34, №2. – P. 139–172.
6. Balanovsky O., Rootsi S., Pshenichnov A., Kivisild T., Churnosov M., Evseeva I., Pocheshkhova E., Boldyreva M., Yankovsky N., Balanovska E., VILLEMS R. Two sources of the Russian patrilineal heritage in their Eurasian context // Am J. Hum Genet. 2008. – Vol. 82, №1. – P. 236–250.

UTEVSKA O.M.^{1,2}, **AGDZHOYAN A.T.**^{3,2}, **PSHENICHNOV A.S.**², **DIBIROVA KH. D.**^{2,3},
CHUHRYAEVA M.I.³, **ATRAMENTOVA L.A.**¹, **BALANOVSKA E.V.**², **BALANOVSKY O.P.**^{2,3}

¹ V.N. Karazin Kharkiv National University

Ukraine, 61022, Kharkiv, Svoboda sq., 4, e-mail: outevsk@yandex.ru

² Research Centre of Medical Genetics of the Russian Academy of Medical Sciences

Russia, Moscow

³ Vavilov Institute for General Genetics, Russian Academy of Sciences

Russia, Moscow

SIMILARITY OF UKRAINIAN POPULATIONS FROM DIFFERENT REGIONS REVEALED BY Y-CHROMOSOMAL MARKERS

Aims. To compare the genetic diversity of the Ukrainian regions by the Y-chromosome haplogroups, which are the high effective genetic markers for similar populations. **Methods.** The genotyping of Y-chromosome markers. Multivariate statistical analysis, correlation analysis. **Results.** The spectrum and frequency of Y chromosome haplogroups in the Ukrainian populations correspond to the genetic pattern of Eastern Europe. The frequency distribution of Y-chromosome haplogroups in different Ukrainian populations are similar. The genetic similarity of Ukrainian population or difference between them is not determined by the geographical distance. **Conclusions.** Ukrainian population belonging to different historical and territorial associations are homogeneous for Y-chromosome markers and have a higher genetic similarity to each other than to the neighboring ethnic groups.

Key words: Y-chromosome, haplogroup, Ukrainians, population, gene pool.

ФЕДОТА А.М.

Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина

Украина, 61022, г. Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: afedota@mail.ru

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ГЕНЕТИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ (ЧИСЛЕННОСТИ И ПОЛОВОЗРАСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК НАСЕЛЕНИЯ) МАЛЫХ ГОРОДОВ И СЕЛ ВОСТОЧНОЙ УКРАИНЫ

Актуальность исследований динамики брачно-миграционной структуры населения Украины обусловлена рядом обстоятельств. В Украине с начала 90-х годов XX века наблюдается изменение ряда генетико-демографических показателей, например, структуры браков, среднего возраста вступления в брак, брачных расстояний, дальности и интенсивности миграций [1]. Это повлияло на рост частоты родственных браков, особенно в сельской местности [2], что в настоящее время обуславливает повышение

распространённости тяжёлых рецессивных заболеваний среди населения. Сходные ситуации давно имеют место в странах Северной Европы и Ближнего Востока, где отмечается высокий уровень инбридинга [3, 4]. Такие изменения генетической структуры популяции создают серьёзную угрозу генетической безопасности населения [5, 6, 7], одной из составляющих безопасности государства в целом. В связи с этим особенно актуально проводить анализ основных генетико-демографических параметров украин-

ских малых городов и сел, охарактеризовать основные демографические факторы формирования генетической структуры населения, оценить

Материалы и методы

Для оценки генетической структуры популяции проанализирована информация о половозрастной структуре, численности населения, площади и количестве населённых пунктов районов области за 2008 год. В областном и районных архивах ЗАГС собрана информация о регистрации браков: 1525 брачных пар (426 пар в сельской местности) из восьми районных центров и 37 сел. Для демонстрации результатов проведенных исследований в данной работе выбраны два района Харьковской области – Змиевской и Красноградский. Оценка генетической структуры городских и сельских популяций

Результаты и обсуждение

Оценки распространенности моногенной патологии, параметры инфраструктуры районов области и генетики-демографические характеристики жителей Харьковской области были использованы для проведения кластерного анализа, результаты которого показали, что деления

их динамику во времени, что и стало целью данной работы и проведено на примере районов Харьковской области.

проведена с помощью величин случайного инбридинга F_{st} [8, 9]. Статистический анализ нормально распределяющихся дат проведен параметрическими методами. Сравнение средних арифметических проведено методом Стьюдента. В отдельных случаях при проведении множественных сравнений вводилась поправка Бонферрони. Статистические гипотезы проверены с помощью критерия t на уровне значимости $p < 0,05$ [10]. Базы данных созданы в программе Microsoft Excel. Расчёты выполнены в программах Microsoft Excel и Statistica-6.

исследуемых районов на выраженные и разнесенные между собой отдельные кластеры не происходит (рис.). Все районы, кроме Двуречанского, объединяются в интервале расстояний от 1 до 2,5.

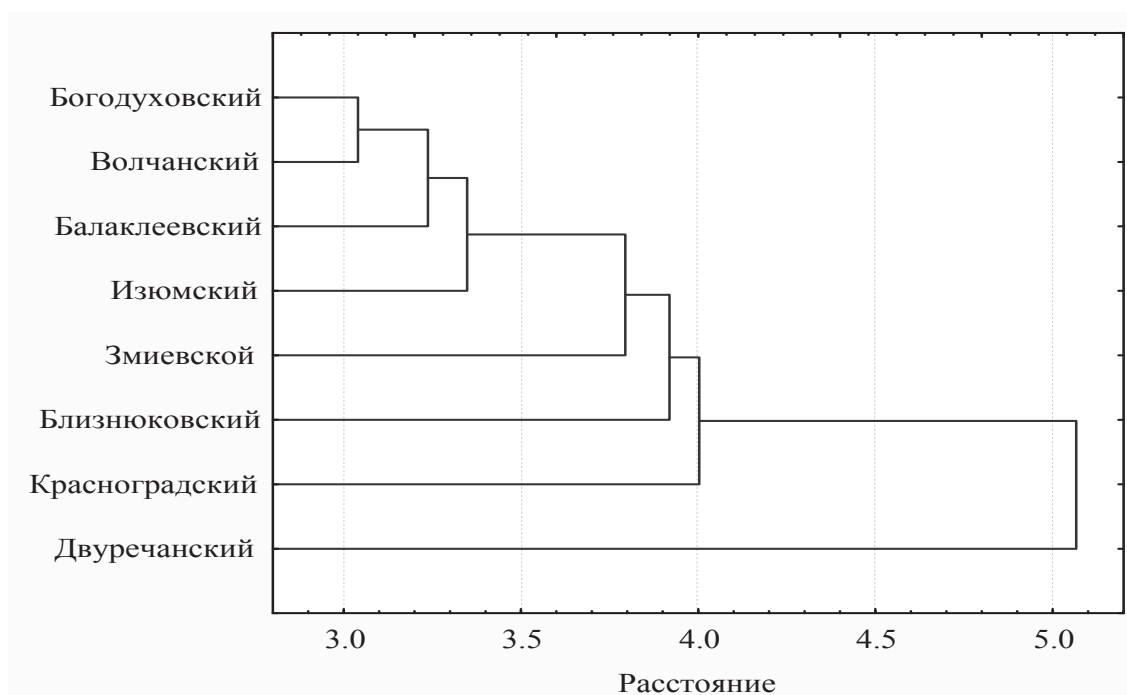


Рис. Кластерный анализ для районов Харьковской области

При этом объединение происходит постепенно с формированием небольших близко расположенных групп. Отсутствие кластеризации и сопоставимая эффективная численность и интенсивность обмена генами друг с другом и с

«популяцией-материком» для субпопуляций-районов области позволяет предложить для описания влияния подразделенности харьковской популяции на ее генетическую структуру «островную» модель. Последняя предполагает под-

разделение ее на большую панмиктическую «популяцию-материк» и небольшие субпопуляции. Кроме «ближних» миграций, все популяции испытывают одинаковое давление «дальних» миграций [10]. Однако, следует ожидать, что когда интенсивность миграций между соседними субпопуляциями существенно превышает давление «дальних», изоляция будет снижать внутривидовое генное разнообразие.

Кроме того, отсутствие кластеризации предполагает, что при выполнении различных видов анализа показательнее проводить их с

участием каждого района отдельно, не объединяя их в группы. В рамках «островной» модели и рассчитаны генетико-демографические параметры районов области и представлены ниже на примере Красноградского и Змиевского районов, и проанализирована их динамика за 12 лет.

Анализ динамики численности (табл. 1) населения в Краснограде и селах Красноградского района Харьковской области с 1976 по 2008 гг. показал, что до 1992 г. наблюдается постепенное повышение численности населения в Краснограде, затем остается на постоянном уровне до 2000 г.

Таблица 1. Динамика численности населения Красноградского района с 1976 по 2008 гг., тыс. чел.

Год	г. Красноград	Села Красноградского р-на	Год	г. Красноград	Села Красноградского р-на
1976	18,6	32,0	1986	26,9	30,9
1977	20,9	31,3	1990	-	29,0
1979	20,9	30,2	1992	27,1	-
1980	21,2	30,1	1993	27,6	29,1
1981	23,9	30,1	1996	-	29,0
1982	24,6	29,6	1998	26,9	28,6
1984	25,7	29,6	2000	26,0	-
1985	26,4	29,7	2008	21,4	24,9

Для сел района отмечается, наоборот, постепенное снижение численности населения, которое затем остается на постоянном уровне с начала 80-х годов до 1996 г. С 1998–2000 гг. отмечается резкое снижение численности населения к 2008 г. до 21,4 тысяч человек в Краснограде и в селах района до 24,9 тысяч человек.

Известно, что непостоянство численности населения, а также его постепенное снижение сопровождается снижением генетически эффек-

тивной численности населения, что является фактором уменьшения темпов его воспроизводства и создает предпосылки для усиления эффектов дрейфа генов и инбридинга.

Исследование возраста вступления в брак женщин и мужчин в отдельных районах Харьковской области на примере Красноградского и Змиевского районов показало, что в 2008 г. отмечается статистически значимая разница между мужчинами и женщинами (табл. 2, 3).

Таблица 2. Средний возраст вступления в брак для женщин и мужчин по Змиевскому и Красноградскому районам, лет

Год		г. Змиев	tf	Села Змиевского р-на	г. Красноград	tf	Села Красноградского р-на
1996	ж	24,67 ± 1,74	0,71	23,92 ± 1,12	26,41 ± 1,76	0,23	26,10 ± 1,94
	tf	2,48	–	3,52	2,42	–	1,82
	м	27,83 ± 1,78	1,03	26,73 ± 1,10	29,55 ± 1,84	0,63	28,68 ± 2,00
Всего		26,25 ± 1,76	0,87	25,33 ± 1,11	27,98 ± 1,80	0,43	27,39 ± 1,97
2008	ж	28,40 ± 0,76	0,84	28,01 ± 0,49	26,92 ± 1,04	4,58	23,52 ± 1,02
	tf	5,32	–	13,28	4,64	–	4,7
	м	31,49 ± 0,84	2,11	32,52 ± 0,45	30,53 ± 1,12	3,51	27,47 ± 1,29
Всего		29,95 ± 0,80	0,67	30,27 ± 0,47	28,73 ± 1,08	4,00	25,50 ± 1,16

Примечания: t – критерий Стьюдента, $t_{st} = 1,96$, p – уровень значимости, $p = 0,05$, м – мужчины, ж – женщины.

Для мужчин всех изученных популяций характерен более высокий, на 2–4 года по сравнению с женщинами, брачный возраст, что является традиционным для европейской культуры.

В 1996 г. средний брачный возраст как женщин, так и мужчин в селах и городах не имел статистически значимых отличий, тогда как в 2008 г. в селах Красноградского района брачный возраст для обоих полов статистически значимо ниже, чем в городе – $25,50 \pm 1,16$ лет по

сравнению с $28,73 \pm 1,08$. Статистически значимой разницы между брачным возрастом как женщин, так и мужчин, заключивших браки в Змиеве и селах Змиевского района в 2008 г., не обнаружено.

За период времени с 1996 по 2008 гг. возраст вступления в брак в Змиеве вырос на 4 года, в селах Змиевского района – на 4 года для женщин и на 6 лет для мужчин, соответственно. Для населенных пунктов Красноградского района он оставался на неизменном уровне.

Таблица 3. Средний возраст вступления в брак по Змиевскому и Красноградскому районам, лет

Населенные пункты	Группа	1996 [2]	t _f	2008
г. Змиев	женщины	24,67	3,84	28,4
	мужчины	27,83	3,64	31,49
	всего	26,25	3,74	29,945
Села Змиевского района	женщины	23,92	6,57	28,01
	мужчины	26,73	9,56	32,52
	всего	25,33	8,05	30,27
г. Красноград	женщины	26,41	0,49	26,92
	мужчины	29,55	0,89	30,53
	всего	27,98	0,70	28,73
Села Красноградского района	женщины	26,1	2,31	23,52
	мужчины	28,68	1,00	27,47
	всего	27,39	1,63	25,50

Примечания: t – критерий Стьюдента, t_f = 1,96, p – уровень значимости, p = 0,05.

Тенденции повышения возраста вступления в брак в небольших городах и селах Восточной Украины за 12 лет, показанные на примере Змиева и сел Змиевского района, вероятно, являются отражением изменения социальных приоритетов в обществе, необходимостью получения образования и профессионального развития,

изменением отношения различных слоев населения к ранним бракам, к необходимости государственной регистрации браков. Тем не менее в селах, как показано на примере Красноградского района, очевидно, пока сохраняются традиции заключения браков в более раннем возрасте.

Выводы

Генетико-демографические исследования дают возможность понять и оценить вероятные отдаленные генетические последствия современных демографических процессов: снижение генетически эффективной численности населения повышает частоту ассортативных родственных браков, особенно в сельской местности, чем обуславливает возрастание отягощенности насе-

ления тяжелыми рецессивными патологиями; повышение среднего возраста вступления в брак является одним из факторов увеличения генетического груза в популяции – генетический риск для потомков повышается, если среди населения наблюдается снижение доли лиц, вступающих в брак в репродуктивно оптимальном возрасте.

Литература

1. Атраментова Л. А., Филипцова О.В., Осипенко С.Ю. Генетико-демографические процессы в городских популяциях Украины в 90-х годах // Генетика. – 2002. – Т. 38, № 7. – С. 972–979.
2. Вількер, А.Л. Генетико-демографічні процеси в популяціях малих міст та сіл Східної України: автореф. дис. канд. біол. наук: 03.00.15 / Харк. нац. ун-т ім. В.Н. Каразіна. – Х., 2001. – 18 с.
3. Gedde-Dahl T. Epidermolysis bullosa: a clinical, genetic and epidemiological study / Baltimore: Johns Hopkins Press, 1971. – P. 117–119.
4. Anton-Lamprecht I. Electron microscopy in the early diagnosis of genetic disorders of the skin // Dermatologica. –

1978. – Vol. 157. – P. 65–85.

5. Курбатова О.Л. Этнодемографические процессы и экологическая ситуация в Москве в свете проблемы генетической безопасности населения // Безопасность России., т. Безопасность и устойчивое развитие крупных городов. – М.: МГФ «Знание». – 1998. – С. 311–335.
6. Калабушкин Б.А., Курбатова О.Л., Понедоносцева Е.Ю., Климанов А.Е. Загрязнение окружающей среды и проблема генетической безопасности городского населения // Доклады III Международной конференции «Экополис-2000: Экология и устойчивое развитие города». – М.: Изд-во РАМН. – 2000. – С. 216–217.
7. Федота А.М., Козлов А.Н. Исследование уровня генетической безопасности городского населения // Цитология и генетика. – 2005. – Т. 39, №4. – С. 41–44.
8. Cavalli-Sforza, L.L., Bodmer W.F. The genetics of human populations / San Francisco: Freeman and Comp. – 1971. – 965 p.
9. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / Под ред. Ю.П. Алтухова. – М.: Наука. – 2004. – 619 с.
10. Атраментова Л.О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології. – Харків, 2007. – 288 с.

FEDOTA A.M.

V.N. Karazin Kharkov National University

Ukraine, 61022, Kharkov, Svoboda sq., 4, e-mail: afedota@mail.ru

ANALYSIS OF DYNAMICS OF GENETIC AND DEMOGRAPHIC PARAMETERS IN THE SMALL URBAN AND RURAL POPULATIONS OF EASTERN UKRAINE

Aims. Genetic and demographic characteristics of small rural and urban populations of Kharkov region had been investigated and their dynamics over the past twelve years had been analyzed. **Methods.** Different types of methods of human genetic (population and genetic-epidemiological study, estimating of marital structure and random inbreeding) and statistical analysis had been carried out. **Results.** The investigation has been conducted on some Eastern Ukraine populations for 1996 and 2008 has shown that the demographic process of small towns and villages has such characteristics as follows: the decreasing of effective numbers, the share lowering of the persons to be married and the share reducing of ones in the reproductive age. **Conclusions.** The data indicate that founded estimates of genetic and demographic parameters may be a cause of increasing of the level of inbreeding and frequencies of autosomal recessive disorders in Ukrainian populations.

Key words: population, sex-age structure, marriage structure, genetic safety.

ФЕДОТА А.М.¹, БЕЛЯЕВА Л.В.², СОЛОДЯНКИН А.С.³, АДМАКИНА А.В.¹

¹ *Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина*

Украина, 61022, г. Харьков, пл. Свободы, 4, e-mail: afedota@mail.ru

² *Национальный технический университет «Харьковский Политехнический Институт»*

Украина, 61000, г. Харьков, ул. Фрунзе, 21, e-mail: belyaeval@inbox.ru

³ *ННЦ Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины*

Украина, 61023, г. Харьков, ул. Пушкинская, 83, e-mail: alex_solod@mail.ru

АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА MTHFR С ОНКОПАТОЛОГИЯМИ У ПРОБАНДОВ С ПСОРИАЗОМ И ИХ РОДСТВЕННИКОВ

Фолат–зависимый одноуглеродный метаболизм (ФОСМ) играет существенную роль в процессах канцерогенеза, однако степень варьирования его вклада в патологические процессы зависит от полиморфных вариантов отдельных генов, регулирующих фолатный обмен в клетке [1–5]. По данным литературы известно, что полиморфные варианты генов одноуглеродного метаболизма, особенно MTHFR, могут быть ассоциированы с различными формами онкопатологий в отдельных популяциях [6–11]. По дан-

ным отечественных авторов, не показано статистически значимой разницы между частотами генотипа ТТ или аллеля Т гена MTHFR у больных раков и среди населения [12]. Ряд исследователей связывают возникновение и развитие онкопатологий не только со снижением активности метилентетрагидрофолат редуктазы, обуславливающей гипометилирование и индукцию хромосомных aberrаций в клетках, но и с сопутствующим вкладом средовых факторов (табакокурение, употребление алкоголя, низкофо-

латная диета) на фоне предикторного генотипа. Представлены данные об отрицательной ассоциации онкопатологий с отдельными мультифакториальными генодерматозами [13]. В связи с неоднозначностью проблематики актуально

Материалы и методы

Сбор первичной информации и биологических образцов проводился на базе ХОККВД №1. Проанализирована генеалогическая информация о 68 больных псориазом и их 440 родственниках I и II степеней родства. Контрольную группу для расчета популяционных частот онкопатологий в харьковской популяции составили 273 человека. Материалом для молекулярно-генетического анализа послужили образцы периферической крови 68 пробандов. 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» («Isogene Lab. Ltd»). Для полиморфизма С677Т реакция амплификации проведена с использованием наборов «GenPak

Результаты и обсуждение

Проведено исследование ассоциаций между наследственной отягощенностью онкопатологиями родственников больных псориазом с полиморфными вариантами С677Т и А1298С по гену МТНFR в восточно-украинской популяции. Проведенный ранее анализ взаимосвязи псориаза с онкопатологиями – раком желудочно-кишечного тракта и легкого, показал отрицательную ассоциацию между этими распространенными тяжелыми мультифакториальными заболеваниями. Наблюдаемая частота различных форм рака среди больных псориазом в возрасте от 50 лет (0 %) была статистически значимо ниже теоретически ожидаемой (2,47 %), что свидетельствует в пользу предположения о метаболических различиях данных патологических процессов [13]. Известно, что мультифакториальные заболевания являются возрастзависимыми. Средний возраст начала онкопатологий в целом в харьковской популяции составляет 57,1 года, для мужчин 58,7 года, для женщин – 55,0 лет. Средний возраст начала рака легкого для мужчин – 55,5 года, рака желудка – 61,9 года, для женщин – 50,5 года и 59,6 года, соответственно [16]. Поскольку данная возрастная группа характеризуется стадией поздней зрелости, выборка больных псориазом для регистрации среди них и их родственников больных с онкопатологиями включала 68 пробандов и из

проведение исследований ассоциаций полиморфных вариантов генов фолатного обмена с онкопатологиями в каждой конкретной популяции, что и стало целью данной работы.

МТНFR PCR test» («Isogene Lab.Ltd») на термоджеле BIOMRTRA T3000 по стандартной методике производителя. Генотипирование полиморфизма А1298С проводилось методом ПДРФ, с участием однонуклеотидных праймеров [14] и эндонуклеазы рестрикции MboII. Электрофоретический анализ проведен с использованием наборов для электрофореза «АмплиСенс» («АмплиСенс»), в 2% и 3% агарозном геле. Разница частот генотипов оценивалась с помощью преобразования Фишера путём угловой трансформации. Статистические гипотезы проверены с помощью критерия t на уровне значимости $p < 0,05$, $0,01$ [15]. Базы данных созданы в программе Microsoft Excel. Расчёты выполнены в программах Microsoft Excel и Statistica-6.

родственников I степени родства – только родителей, из родственников II степени родства – только прародителей, в возрасте от 50 лет, так как более молодые родственники, вероятно, еще не дожили до возраста манифестации рака. Изучение фактической частоты злокачественных новообразований среди больных псориазом показало, что среди них лиц с онкозаболеваниями не обнаружено. Популяционная частота онкопатологий для населения харьковского региона составила 6,95 %.

Обнаружена статистически значимая более высокая отягощенность онкопатологиями родственников I степени родства пробандов с генотипами СС–АА и ТТ–АА по сравнению с популяционной частотой (табл.).

Наименее отягощенными больными онкопатологиями родственниками I степени родства оказались пробанды с генотипом СТ–АС относительно пробандов с другими генотипами. Пробанды с генотипом СТ–АС наименее отягощены по сравнению с пробандами генотипа СТ–СС ($tst = 2,07$, $tf = 3,5$, $p < 0,01$), наименее отягощены больными родственниками женского пола по сравнению с пробандами генотипа СС–АА ($tst = 2,09$, $tf = 2,3$, $p < 0,05$), наименее отягощены родственниками женского ($tst = 2,09$, $tf = 2,3$, $p < 0,05$) и мужского ($tst = 2,04$, $tf = 2,2$, $p < 0,05$) пола по сравнению с пробандами гено-

типа ТТ–АА.

Отягощенность пробандов с различными генотипами больными онкопатологиями родственниками II степени родства по материнской линии лежит в пределах 3,6–8,3 %, по отцовской линии – 4,2–50 %.

Известно, что носительство аллеля Т в позиции 677 и аллеля С в позиции 1298 гена MTHFR в гомозиготном состоянии показано как существенный компонент высокого риска развития сосудистых и репродуктивных нарушений [17], предраковых и раковых состояний [6–11]. По данным ряда авторов, у больных псориазом отмечается гипергомоцистеинемия [18]. Наши исследования показали, что среди больных псориазом выше доля гетерозигот С677Т, чем среди

населения (СТ – 50,6 % проти СТ – 33,7 %, $t_{st} = 2,58$, $t_f = 2,93$, $p < 0,01$). Отечественные авторы [19] отмечают, что в украинских популяциях у гетерозигот С677Т, дигетерозигот С677Т/А1298С отмечаются наиболее высокие значения уровня гомоцистеина в плазме крови. Избыток гомоцистеина в организме корректируется путем его превращения в метионин или цистеин. Известно также, что цистеин является мощным антиоксидантом [20], что, вероятно, является одним из онкопротекторных факторов не только для больных псориазом, но и для их родственников I степени родства, носителей исследуемых аллелей гена MTHFR в гетерозиготном состоянии.

Таблица. Частота онкопатологий среди родственников I степени родства

Генотип пробанда	Пол пробанда	♀		♂		Σ		t	p
		n	%	n	%	n	%		
CC–AA	♀	5	25	6	50	11	37,5	3,0	<0,05
	♂	11	10	10	0	21	5	0,9	>0,05
	Σ	16	14,3	16	14,3	32	14,3	1,6	>0,05
CC–AC	♀	4	33,3	3	0	7	16,7	1,3	>0,05
	♂	12	9,1	13	18,2	25	13,6	1,6	>0,05
	Σ	16	14,3	16	14,3	32	14,3	1,6	>0,05
CC–CC	♀	3	0	3	0	6	0	0	>0,05
	♂	2	0	2	0	4	0	0	>0,05
	Σ	5	0	5	0	10	0	0	>0,05
CT–AA	♀	2	0	2	0	4	0	0	>0,05
	♂	11	10	11	10	22	10	0,9	>0,05
	Σ	13	8,3	13	8,3	26	8,3	0,6	>0,05
CT–AC	♀	5	0	6	20	11	10	0,8	>0,05
	♂	14	7,7	13	0	27	3,8	1,3	>0,05
	Σ	19	5,6	19	5,6	38	5,6	0,7	>0,05
CT–CC	♀	2	0	3	50	5	25	1,6	>0,05
	♂	–	–	–	–	–	–	–	–
	Σ	2	0	3	50	5	25	1,6	>0,05
TT–AA	♀	6	50	5	25	11	37,5	3,0	<0,05
	♂	5	0	7	40	12	20	1,7	>0,05
	Σ	11	22,2	12	33,3	23	27,8	2,9	<0,05

Примечания: n – число родственников, t – критерий Стьюдента, p – уровень значимости.

Выводы.

При генетическом анализе мультифакториальных заболеваний актуально исследование генетической компоненты, взаимодействия ге-

нов генных сетей рассматриваемых патологий, и средовой компоненты, что будет продолжено в последующих работах.

Авторы выражают глубокую благодарность главному врачу ХОККВД №1 проф. П.П. Рыжко, зав. стационаром ХОККВД №1 Л.В. Роценюк, врачу–дерматовенерологу ХОККВД №1 В.М. Воронцову, заведующему лабораторией молекулярной диагностики и эпизоотологии НИЦ «ИЭКВМ» А.П. Герилевичу за плодотворное сотрудничество при выполнении исследования.

Литература

1. Gibson T.M., Brennan P., Han S. et al. Comprehensive evaluation of one-carbon metabolism pathway gene variants and renal cell cancer risk // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6, №10. – P. 261–265.
2. Levine A.J., Lee W., Figueiredo J.C. et al. Variation in folate pathway genes and distal colorectal adenoma risk: a sigmoidoscopy-based case-control study // *Cancer Causes Control*. – 2011. – Vol. 22, №4. – P. 541–552.
3. Figueiredo J.C., Levine A.J., Lee W.H. et al. Genes involved with folate uptake and distribution and their association with colorectal cancer risk // *Cancer Causes Control*. – 2010. – Vol. 21, №4. – P. 597–608.
4. Levine A.J., Figueiredo J.C., Lee W. et al. A candidate gene study of folate-associated one carbon metabolism genes and colorectal cancer risk // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2010. – Vol. 19, №7. – P. 1812–1821.
5. Collin S.M., Metcalfe C., Zuccolo L. et al. Association of folate-pathway gene polymorphisms with the risk of prostate cancer: a population-based nested case-control study, systematic review, and meta-analysis // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2009. – Vol. 18, №9. – P. 2528–2539.
6. Giovannucci E., Chen J., Smith-Warner S.A. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase, alcohol dehydrogenase, diet, and risk of colorectal adenomas // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. – 2003. – Vol. 12, №10. – P. 270–279.
7. Martin D.N., Boersma B.J., Howe T.M. et al. Association of MTHFR gene polymorphisms with breast cancer survival *BMC* // *Cancer*. – 2006. – Vol. 6. – P. 257.
8. Sohl K.J., Croxford R., Yates Z. et al. Effect of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphisms on chemosensitivity of colon and breast cancer cells to 5-fluorouracil and methotrexate // *J. Natl. Cancer Inst.* – 2004. – Vol. 96. – P. 134–144.
9. Marchand L.L., Wilkens L.R., Kolonel L.N. et al. The MTHFR C677T polymorphism and colorectal cancer: the multiethnic cohort study // *Cancer Epidemiol., Biomarkers Prev*. – 2005. – Vol. 14, №5. – P. 1198–1203.
10. Hubner R.A., Houlston R.S. MTHFR C677T and CRC risk: A meta-analysis of 25 populations // *Cancer Genet.* – 2006. – Vol. 120, №5. – P. 1027–1035.
11. Toffoli G., Gafa R., Russo A et al. Methylenetetrahydrofolate reductase 677 C→T polymorphism and risk of proximal colon cancer in North Italy // *Clinic Cancer Res*. – 2003. – Vol. 9. – P. 743–748.
12. Лозинська М.Р., Чорна Л.Б., Макух Г.В., Лозинський Ю.С. Апельний поліморфізм С677Т гена метилентетрагідрофолатредуктази у хворих на рак товстої кишки // *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. – 2012. – Т. 10, №1. – С. 51–57.
13. Федота А.М., Беляева Л.В., Винокурова Е.И., Безродная А.И. Исследование ассоциаций псориаза и онкопатологий // *Вісн. Харків. нац. ун-ту ім. В.Н. Каразіна. Сер.: біологія*. – 2008. – Вип. 7, №814. – С. 52–56.
14. Bagheri M., Rad I.A., Omrani M.D. et al. C677T MTHFR and A1298C Mutations in the Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene in Patients with Recurrent Abortion from the Iranian Azeri Turkish // *In. J. of Fert. And Ster.* – 2010. – Vol. 3. – P. 134–139.
15. Атраментова Л.О., Утевська О.М. Статистичні методи в біології. – Х.: ХНУ, 2007. – 288 с.
16. Беляева Л.В. Корреляция между родственниками по возрасту манифестации рака легкого и рака толстого кишечника. Автореф. дисс. канд. биол. наук. – Х.: ХНУ, 2004. – 20с.
17. Wehby G.L., Murray J.C. Folic acid and orofacial clefts: a review of the evidence / G. L. Wehby, // *Oral. Dis.* – 2010. – Vol. 16, №1. – P. 11–19.
18. Brazzelli V. et al. Homocysteine, vitamin B 12 and folic acid levels in psoriatic patients and correlation with disease severity // *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 23, №3. – P. 911–916.
19. Назарько І.М., Акопян Г.Р., Андреев Є.В. Перші результати дослідження рівня гомоцистеїну та поліморфних варіантів генів фолатного обміну в українських пацієнтів з ішемічною хворобою серця // *Актуал. пробл. акушерства і гінекології, клін. імунології та мед. генетики: зб. наук. праць*. – 2011. – Вип. 21. – С. 358–366.
20. Salaspuro V. Interaction of alcohol and smoking in the pathogenesis of upper digestive tract cancers – possible chemoprevention with cysteine: doctoral dissertation (article-based) // *Univ. of Helsinki.* – Helsinki, 2006. – 79 p.

FEDOTA A.M.¹, BELYAEVA L.V.², SOLODYANKIN A.S.³, ADMAKINA A.V.¹

¹ *V.N. Karazina Kharkiv National University*

Ukraine, 61022, Kharkiv, Svoboda str., 4, e-mail: afedota@mail.ru

² *Nationaly Technical University «Kharkiv Polytechnic Institute»*

Ukraine, 61000, Kharkov, Frunze str., 21, e-mail: belyaeval@inbox.ru

³ *NNTS «Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine»*

Ukraine, 61023, Kharkov, Pushkinska str., 83, e-mail: alex_solod@mail.ru

ANALYSIS OF ASSOCIATIONS OF POLIMORPHIC VARIANTS OF MTHFR GENE IN CANCER PROBANDS WITH PSORIASIS AND THEIR RELATIVES

Aim. Research association of polymorphic variants of genes of folate metabolism with cancer in a ukrainian population had been investigated. **Methods.** Genealogical analysis of 68 probands and 440 relatives was car-

ried out. Genomic DNA of 68 patients was analyzed by polymerase chain reaction. **Results.** Statistically significant higher cancer pathology burdened with native I-degree relatives of probands compared to genotypes CC-AA and TT-AA compared with population frequency. Probands with genotype CT-AC were the least burdened by native I-degree relatives with cancer pathology. **Conclusion.** The study of the frequency of malignant neoplasms in patients with psoriasis showed that among them persons with oncological diseases are not detected. It is known that cysteine is a powerful antioxidant, that, apparently, is one of the factors cancer protector not only for patients with psoriasis, but also for their native I-degree relatives as heterozygotes for single nucleotide polymorphisms C677T and A1298C MTHFR gene.

Key words: psoriasis, cancer, hyperhomocysteinemia, methylenetetrahydrofolate reductase.

ШЕМЕТУН Е.В., ТАЛАН О.А., ПИЛИНСКАЯ М.А.

*ГУ «Национальный научный центр радиационной медицины НАМН Украины»
Украина, 04050, Киев, ул. Мельникова, 53, e-mail: shemetun@bigmir.net*

РАДИОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ КОМПЛЕКСНОГО ВИТАМИННОГО ПРЕПАРАТА «ВЕТОРОН» В КУЛЬТУРЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА

Проблема повышения устойчивости организма человека к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды приобретает все большую актуальность в связи с возрастающей мутагенной нагрузкой радиационной природы. Ионизирующее излучение на клеточном уровне вызывает сдвиг прооксидантно-антиоксидантного равновесия в направлении активации процессов перекисного окисления липидов в биологических мембранах и жидкостях – т.е. оксидативный стресс. Оксидативный стресс является индуктором ряда неспецифических реакций, результатом которых может быть деструкция мембран, инактивация ферментов и гормонов, повреждение ДНК, нарушение клеточного цикла, гибель клетки, что может быть первопричиной медицинских последствий облучения человека, в том числе, патологии с мутационной компонентой [1, 2].

Предотвращение последствий облучения в опасных для человека дозах достигается путем применения профилактических противолучевых средств, в частности, радиопротекторов [3]. К

наиболее известным радиопротекторам природного происхождения относятся витамины – токоферол, ретинол, каротиноиды, аскорбиновая кислота [4, 5]. Эти витамины являются мощными антиоксидантами и способны защищать клетки от оксидативного стресса путём нейтрализации свободных радикалов и приостановления реакций перекисного окисления в тканях [5].

Большинство исследований, посвящённых изучению антимуtagenных свойств указанных витаминов, проведено при их использовании здоровыми донорами в физиологически рекомендованных дозах [6, 7]. Однако возможность модификации витаминами цитогенетических эффектов, индуцированных ионизирующей радиацией в соматических клетках человека исследована недостаточно.

Целью нашей работы было изучение влияния комплексного витаминного препарата «Веторон» на уровень хромосомных повреждений, индуцированных рентгеновским облучением *in vitro* в лимфоцитах периферической крови человека.

Материалы и методы

Материалом цитогенетического исследования служили лимфоциты периферической крови 10-ти условно здоровых волонтеров среднего возраста, отрицавших сознательный контакт с ионизирующим излучением и другими мутагенами. В качестве радиопротектора использовали комплексный витаминный препарат «Веторон» (Россия), содержащий водорастворимые формы витаминов Е (токоферол), С (аскорбиновая кислота) в концентрациях 40 мг/мл и А (ретинол) в концентрации 20 мг/мл.

Препарат «Веторон» добавляли в цельную кровь за 1 час до облучения в концентрации 40 мкг/мл, которая не оказывала токсического влияния на необлучённые лимфоциты периферической крови человека [5]. Кровь облучали в дозе 1 Гр на установке РУМ-17 (напряжение 200 кВ, сила тока 10 мА, фильтр: *Cu* 0,5 мм + *Al* 1 мм, мощность дозы 0,415 Гр/мин).

Культивирование лимфоцитов периферической крови осуществляли по стандартной методике [8] в течение 48 часов. Цитогенетический

анализ дифференциально G-окрашенных препаратов метафазных хромосом [9] проводили под микроскопом при увеличении $\times 1000$. Учитывали весь спектр aberrаций хроматидного и хромосомного типов. Точки разрывов в повреждённых хромосомах регистрировали, согласно международной номенклатуре ISCN – 2005 [10]. Анали-

зировали не менее 100 метафазных пластинок на каждого обследованного. Исходные (до облучения крови) частоты повреждений хромосом принимали за контрольные показатели. При статистическом анализе данных использовали критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При цитогенетическом обследовании условно здоровых волонтеров установили, что среднегрупповая частота aberrаций хромосом в необлученных лимфоцитах периферической крови соответствовала популяционному уровню (рис. 1). Облучение цельной крови *in vitro* в дозе 1 Гр вызвало достоверное увеличение средне-

групповой частоты повреждений хромосом до $24,19 \pm 1,10$ на 100 метафаз ($p < 0,001$). Использование перед облучением препарата «Веторон» привело к достоверному снижению среднегруппового уровня aberrаций хромосом до $12,23 \pm 0,71$ на 100 метафаз ($p < 0,001$).

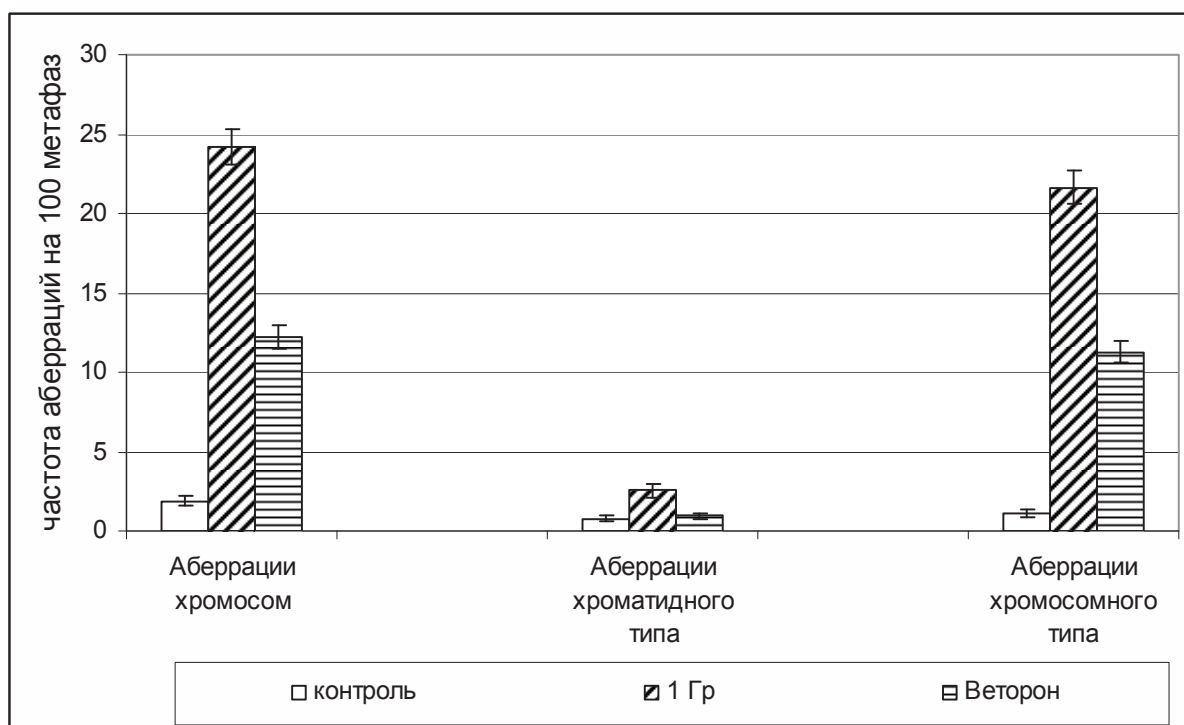


Рис. 1. Основные цитогенетические показатели в лимфоцитах периферической крови условно здоровых волонтеров

Сравнивая полученные результаты с данными литературы, можно отметить следующее. О.Ю. Абазова и сотр. [6] при изучении антимуtagenных свойств витаминов А и С (волонтеры принимали витамины в рекомендуемых суточных дозах) наблюдали снижение числа клеток с микроядрами в соскобах букального эпителия после приёма витаминов и снижение общего количества цитогенетических повреждений на 38 %. В исследованиях М. Копораска установлено, что витамины С и Е («Sigma») при раздельном использовании проявляли радиопротекторные свойства в культуре облученных лимфо-

цитов периферической крови человека при внесении *in vitro* в концентрации 10 мг/мл [11]. В работе Н.П. Бочкова с сотр. [12] показано, что приём витаминно-минеральных комплексов в суммарных дозах, превышающих суточные потребности, не увеличивает спонтанного мутирования соматических клеток человека и уменьшает их чувствительность к цитогенетическому действию химических мутагенов.

Проведенный нами анализ спектра исходных и радиоиндуцированных aberrаций хромосом показал, что до облучения крови aberrации хроматидного типа были представлены только

разрывами, частота встречаемости которых составляла $0,80 \pm 0,17$ на 100 метафаз. При облучении крови *in vitro* в дозе 1 Гр в лимфоцитах зарегистрированы не только разрывы, но и хроматидные обмены. Общее количество хроматидных повреждений после радиационного воздействия достоверно превышало их спонтанную частоту ($p < 0,05$). Использование препарата «Веторон» позволило снизить частоту aberrаций хроматидного типа до исходного уровня ($p > 0,05$).

Спонтанный уровень aberrаций хромосо-

много типа составлял $1,10 \pm 0,20$ на 100 метафаз. Облучение крови индуцировало его повышение до $21,63 \pm 1,06$ на 100 метафаз, а применение «Веторона» – достоверное снижение до уровня $11,28 \pm 0,69$ на 100 метафаз ($p < 0,001$), что свидетельствует о радиопротекторных свойствах использованного нами антиоксидантного препарата.

Среди aberrаций хромосомного типа зарегистрированы делеции, дицентрические и кольцевые хромосомы, транслокации и инверсии (рис. 2).

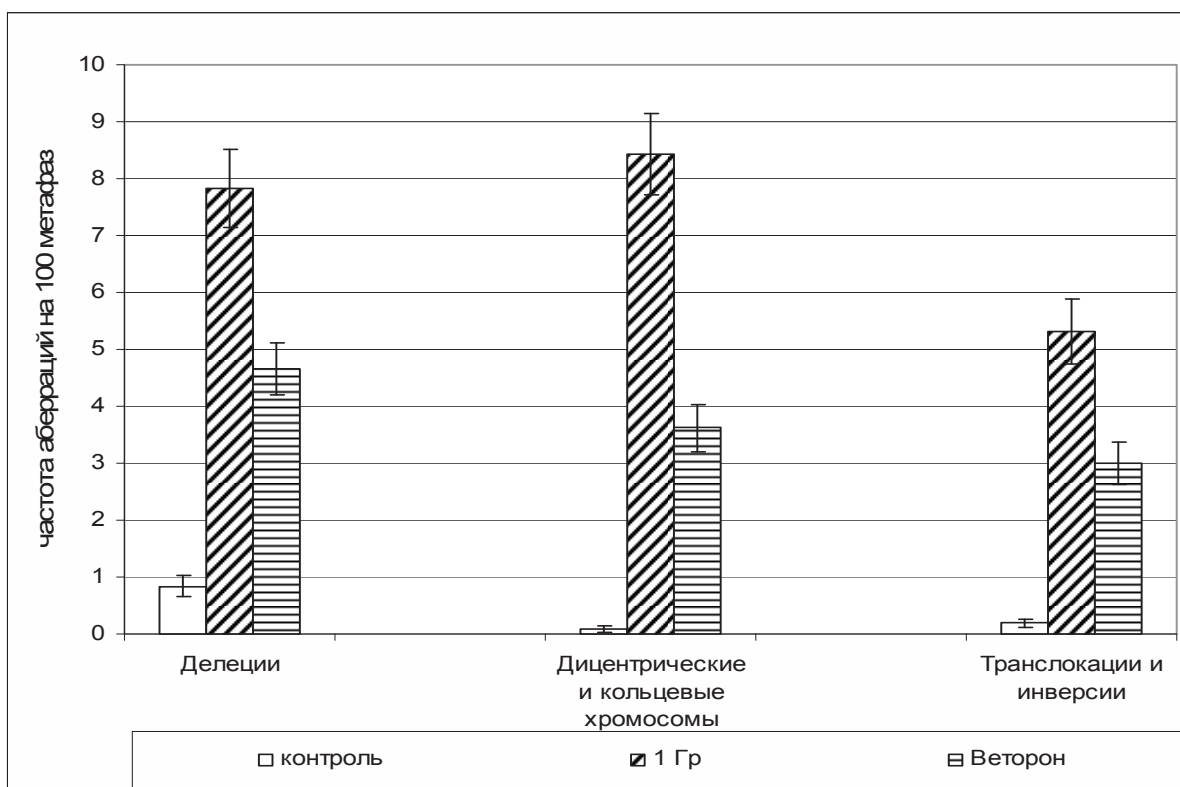


Рис. 2. Стабильные и нестабильные aberrации хромосом в лимфоцитах периферической крови условно здоровых волонтеров

Частота нестабильных маркеров действия радиации при рентгеновском облучении крови достоверно превышала контрольную ($p < 0,001$). При использовании «Веторона» частота дицентрических и кольцевых хромосом снижалась до уровня $3,62 \pm 0,41$ на 100 метафаз ($p < 0,001$).

Частота стабильных маркеров действия

радиации в облученных лимфоцитах периферической крови составила $5,39 \pm 0,58$ на 100 метафаз ($p < 0,001$). Применение комплексного витаминного препарата способствовало ее достоверному снижению до $3,00 \pm 0,37$ на 100 метафаз ($p < 0,05$).

Выводы

В результате проведенных исследований показано, что использование комплексного витаминного препарата «Веторон» в концентрации 40 мкг/мл перед облучением цельной крови *in vitro* в дозе 1 Гр достоверно снижает радион-

дуцированный цитогенетический эффект в культуре лимфоцитов периферической крови человека. Полученные данные свидетельствуют о радиопротекторном эффекте «Веторона».

Литература

1. Власенко Т.Н., Назаров В.Б., Гребенюк А.Н. Современные подходы к фармакологической профилактике радиационных поражений // Фармакология. – 2010. – №8. – С. 230–253.
2. Гуськов Е.П., Машкина Е.В., Беличенко Н.И. и др. Мутационные процессы у животных, преадаптированных к окислительному стрессу // Экологическая генетика. – 2009. – Т. VII, № 1. – С. 41–48.
3. Шишкина Л.Н. Особенности синтетических и природных антиоксидантов как радиопротекторов при лучевом поражении разной степени тяжести // Острые проблемы разработки противолучевых средств: консерватизм или модернизация: сборник тезисов, Москва, 13-14 ноября 2012. – С. 21.
4. Моссэ И.Б. Проблемы оценки генетических эффектов ионизирующей радиации у человека // Техногенна безпека. Наукові праці. – 2009. – Т. 116, В. 103. – С. 4–8.
5. Шеметун О.В., Талан О.О., Педан Л.Р. Вплив антиоксидантного препарату на частоту аберацій хромосом у лімфоцитах людини // Актуальні проблеми акушерства і гінекології, клінічної імунології та медичної генетики: зб. наук. праць. – 2012. – Вип. 23. – С. 433–439.
6. Абазова О.Ю., Реутова Н.В., Сычева Л.П., Чернышева Е.А. Изучение антимуtagenного действия витаминов А и С при обследовании людей // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2012. – №11. – С. 606–610.
7. Сиднева Е.С., Катосова Л.Д., Платонова В.И. и др. Оценка спонтанного и химически индуцированного мутагенеза в клетках человека в зависимости от витаминной обеспеченности // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2005. – №2. – С. 199–203.
8. Цитогенетичні методи дослідження хромосом людини: Метод. рекомендації / КМАПО МОЗ України. – Київ, 2003. – 23 с.
9. Seabright M. A rapid banding technique for human chromosomes // Lancet. – 1971. – Vol. 2. – P. 971–972.
10. An International system for human cytogenetic nomenclature: high-resolution banding (2005) / Standing committee on Human Cytogenetic nomenclature. – Basel: Karger, 2005. – 130 p.
11. Конопаска М. The influence of antioxidant vitamins on the radiation-induced bystander effect in normal human lymphocytes // Сучасні проблеми радіаційних досліджень. 35-а щорічна конференція Європейського товариства з радіаційних досліджень: зб. матеріалів. – К., 2007. – С. 94–101.
12. Бочков Н.П., Дурнев А.Д., Никитина В.А. и др. Защитное действие витаминов при индуцированном мутагенезе // Вест. Рос. Акад. мед. наук. – 2007. – №7. – С. 6–13.

SHOMETUN O.V., TALAN O.A., PILINSKAYA M.A.

SI «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

Ukraine, 04050, Kyiv, Melnikov str., 53, e-mail: shemetun@bigmir.net

RADIOPROTECTIVE EFFECT OF COMPLEX VITAMIN MEDICAL PRODUCT «VETORON» IN THE CULTURE OF HUMAN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

Aim. Investigation of the effect of complex vitamin medical product «Vetoron» on the level of chromosomal damages induced by X-ray irradiation in vitro in human peripheral blood lymphocytes. **Methods.** Cultivation of peripheral blood lymphocytes received from ten conditionally healthy volunteers during 48 hours; X-ray irradiation of whole blood before cultivation in a dose 1 Gy; treatment of whole blood by «Vetoron» (complex of water-soluble forms of vitamins A, E, C) in concentration 40 mkg/ml 1 hour before irradiation; G-banding staining of metaphase chromosome slides; scoring of slides under the microscope (cytogenetic analysis); identification of the full range of chromatid and chromosome aberration types. **Results.** The use of complex vitamin medical product «Vetoron» before X-ray irradiation of human whole blood in vitro significantly reduced radioinduced cytogenetic effect in cultured human peripheral blood lymphocytes. **Conclusions.** The data received indicate radioprotective effect of «Vetoron» established by cytogenetic criteria.

Key words: human peripheral blood lymphocytes, in vitro irradiation, radioprotector, vitamins, chromosome aberrations.

АНАЛІЗ ТА ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ

АДАМОВСКАЯ В.Г., МОЛОДЧЕНКОВА О.О., СИЧКАРЬ В.И., КАРТУЗОВА Т.В., БЕЗКРОВНАЯ Л.Я., ЛАВРОВА Г.Д. ХАРАКТЕР НАСЛЕДОВАНИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ 7S И 11S ГЛОБУЛИНОВЫХ БЕЛКОВ У ГИБРИДОВ F ₃ СЕМЯН СОИ	3
БАЄР Г.Я., ПІРКО Я.В., СТАДНІЧУК Н.О., РАХМЕТОВ Д.Б., ЄМЕЦЬ А.І., БЛЮМ Я.Б. ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ ГЕНОТИПІВ <i>ELEUSINE CORACANA</i> (L.) GAERTN. ТА <i>ELEUSINE INDICA</i> (L.) GAERTN. ЗА ДОПОМОГОЮ ISSR-АНАЛІЗУ	6
БАЗАЛІЙ В.В., БОЙЧУК І.В., ЛАРЧЕНКО О.В., БАБЕНКО Д.В., БАЗАЛІЙ Г.Г. ХАРАКТЕР ПРОЯВУ ЗИМОСТІЙКОСТІ ТА ВРОЖАЙНОСТІ СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ РІЗНОГО ТИПУ РОЗВИТКУ ЗАЛЕЖНО ВІД УМОВ ВИРОЩУВАННЯ	10
БОНДУС Р.О., ХАРЧЕНКО Ю.В. АНАЛІЗ ТА ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ КАРТОПЛІ НА УСТИМІВСЬКІЙ ДОСЛІДНІЙ СТАНЦІЇ РОСЛИННИЦТВА	14
БУБЛИК О.М., АНДРЕЄВ І.О., ПАРНІКОЗА І.Ю., ТРОЇЦЬКА Т.Б., КУНАХ В.А. КОМПЛЕКСНА ОЦІНКА СТАНУ ПОПУЛЯЦІЙ <i>IRIS PUMILA</i> L. УКРАЇНИ	18
ВАСИЛЬЄВ В.С. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА СПЕРМЫ МЕТОДАМИ ИНТЕРФЕРЕНЦИОННОЙ МИКРОСКОПИИ	23
ВЕРЖУК В.Г., ПАВЛОВ А.В., ТИХОНОВА О.А., БОРЗЫХ Н.В., ДОРОХОВ Д.С. ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ГЕНОПЛАЗМЫ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР ПОСЛЕ КРИОСОХРАНЕНИЯ В ПАРАХ ЖИДКОГО АЗОТА ПРИ – 183 - 185°C.	27
ГАЛАЕВ А.В., ГАЛАЕВА М.В., СИВОЛАП Ю.М. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО ЛОКУСА <i>XBARC55-2B</i> , СЦЕПЛЕННОГО С ГЕНОМ ГИБРИДНОГО НЕКРОЗА <i>NE2</i> , В СОРТАХ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.)	30
ГУЗЄВ І.В. ЦІЛІ, ЦІННОСТІ Й ОДИНИЦЯ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ НА ГЕНОФОНДОВИЙ ОБ'ЄКТ У ТВАРИННИЦТВІ	35
ЗАЇКА Є.В., СОЗІНОВ О.О., КАРЕЛОВ А.В., КОЗУБ Н.О., ФІЛЕНКО О.Л., СОЗІНОВ І.О. ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНІВ ПОМІРНОЇ НЕРАСОСПЕЦИФІЧНОЇ СТІЙКОСТІ ДО ХВОРОБ <i>SR2/LR27</i> ТА <i>LR34/YR18/PM38</i> У АХ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ ННЦ «ІНСТИТУТ ЗЕМЛЕРОБСТВА НААН»	40
ЗЕМЦОВА Л.В., АМОСОВА А.В., САМАТАДЗЕ Т.Е., ГРУШЕЦКАЯ З.Е., ВОЛОВИК В.Т., ЗЕЛЕНИН А.В., ЛЕМЕШ В.А., МУРАВЕНКО О.В. ИССЛЕДОВАНИЕ ХРОМОСОМНЫХ МАРКЕРОВ СОРТОВ РАПСА РОССИЙСКОЙ И БЕЛОРУССКОЙ СЕЛЕКЦИИ	44
ИШМУРАТОВА Н.М., ЯКОВЛЕВА М.П., ТАМБОВЦЕВ К.А., ИШМУРАТОВ Г.Ю ПРОТИВОРОЕВОЕ ДЕЙСТВИЕ ТОС-3 НА ТРУТНЕВОМ РАС ПЛОДЕ	48

КАРЕЛОВ А.В., ПИЛИПЕНКО Л.А., КОЗУБ Н.О., БОНДУС Р.О., ФІЛЕНКО О.Л., СОЗІНОВ І.О., БЛЮМ Я.Б., СОЗІНОВ О.О. ПОЛІМОРФІЗМ МОЛЕКУЛЯРНОГО МАРКЕРА ГЕНА <i>H1</i> , АСОЦІЙОВАНОГО ЗІ СТІЙКІСТЮ ДО ЗОЛОТИСТОЇ НЕМАТОДИ (<i>GLOBODERA ROSTOCHIENSIS</i>), СЕРЕД СОРТІВ КАРТОПЛІ (<i>SOLANUM TUBEROSUM</i> SSP. <i>TUBEROSUM</i>) УКРАЇНСЬКОЇ ТА СВІТОВОЇ СЕЛЕКЦІЇ.....	50
КОБИЗЄВА Л. Н. ВИХІДНИЙ МАТЕРІАЛ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЇ ЗЕРНОБОБОВИХ КУЛЬТУР З ПОКРАЩЕНИМИ ТЕХНОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ НАСІННЯ	54
КОВТУН С.І., ЩЕРБАК О.В., ТРОЦЬКИЙ П.А., ГАЛИЦЬКА Т.В., ЗЮЗІОН А.Б. ЗАСТОСУВАННЯМ НАНОМАТЕРІАЛІВ У СИСТЕМІ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРИЗНОМАНІТТЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН УКРАЇНИ	57
КОЗЛОВСКАЯ З.А., ТАРАНОВ А.А., ЛЁГКАЯ Л.В. ОЦЕНКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНОФОНДА ПЛОДОВЫХ, ЯГОДНЫХ, ОРЕХОПЛОДНЫХ КУЛЬТУР И ВИНОГРАДА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ	62
КОЗУБ Н.О., СОЗІНОВ І.О., БІДНИК Г.Я., ДЕМ'ЯНОВА Н.О., СОЗІНОВ О.О. РЕЄСТРАЦІЯ ЗРАЗКІВ-СТАНДАРТІВ АЛЕЛІВ ЛОКУСІВ ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ СУБОДИНИЦЬ ГЛЮТЕНІНІВ <i>AEGILOPS BIUNCIALIS VIS</i>	65
ЛАПШИН П.В., ЗАГОСКИНА Н.В. КРАССУЛЫ И СОДЕРЖАНИЕ В НИХ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	69
МАКЛЯК Е. Н., КИРИЧЕНКО В. В. ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА НА ТЕМПЕРАТУРНЫЙ РЕЖИМ МЕЖФАЗНЫХ ПЕРИОДОВ	72
МАМЕДОВА Н.Х., ШИХЛИНСКИЙ Г.М., ГАСАНОВА Г.И ИЗУЧЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ К ВИЛТУ ГИБРИДОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ОТ ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ СОРТОВ И ФОРМ ХЛОПЧАТНИКА	77
МОСУЛА М.З., КОНВАЛЮК І.І., МЕЛЬНИК В.М., ДРОБИК Н.М. ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ЧОРНОГІРСЬКИХ ПОПУЛЯЦІЙ <i>GENTIANA LUTEA</i> L. (<i>GENTIANACEAE</i>) З УКРАЇНСЬКИХ КАРПАТ: RAPD-АНАЛІЗ	80
ОПАЛКО А.І., АНДРІЄНКО О.Д., ОПАЛКО О.А. ПОСТТРАВМАТИЧНА РЕГЕНЕРАТИВНА СПРОМОЖНІСТЬ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ <i>AMELANCHIER</i> MEDİK.....	84
ПОЛИЩУК Л.В., ЛУКЬЯНЧУК В.В. ПОИСК IN SILICO УАКТИНОМИЦЕТОВ ПАТТЕРНОВ, ГОМОЛОГИЧНЫХ LNDJ-БЕЛКУ STREPTOMYCES GLOBISPORUS 1912.....	88
ПОЛЯКОВА Л.В., ГАМАЮНОВА С.Г., ЖУРОВА П.Т. БИОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МНОГОВЕКОВОГО НАСАЖДЕНИЯ И 55-ЛЕТНЕЙ КУЛЬТУРЫ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО, ОТЛИЧАЮЩИХСЯ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ЛИСТОГРЫЗУЩИМ НАСЕКОМЫМ	92
САВКИН Н.Л., КОВТУН Н.В., ШЕЛИХОВ П.В., МАРУХА Н.Н., ПАВЛОВА М.В., ПОНОМАРЕВА К.В. ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ ГЕНОТИПОВ СОРТОВ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ НА РЕГУЛЯТОРЫ РОСТА РАСТЕНИЙ, ПРЕДОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ВЕЛИЧИНУ ПОКАЗАТЕЛЯ ЗИМОСТОЙКОСТИ.....	96

СМАЗНОВА И.А., НЕМЦОВА К.Н., ЗАЯКИН В.В., НАМ И.Я. АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА ПЛЕМЕННЫХ БЫКОВ БРЯНСКОЙ ОБЛАСТИ ПО ГЕНУ VOLA-DRV3	99
ТРУХАН В.А., КОЗЛОВ Н.Н., КОРОВИНА В.Л. СТРАТЕГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕНОФОНДА ДИКОРАСТУЩЕЙ ФЛОРЫ МНОГОЛЕТНИХ ТРАВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНОГО ЗЕМЛЕДЕЛИЯ В РОССИИ.....	105
ШТАРК О.Ю., ОВЧИННИКОВА Е.С., ЛИМПЕНС Э., ЖУКОВ В.А., БОРИСОВ А.Ю., ФЕДОРОВА Е.Е., БИССЕЛИНГ Т., ТИХОНОВИЧ И.А. НОВЫЕ ДАННЫЕ О РОЛИ LRR-РЕЦЕПТОРНОЙ КИНАЗЫ SUM19 В ФОРМИРОВАНИИ БОБОВО-РИЗОБИАЛЬНОГО СИМБИОЗА И АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ У ГОРОХА.....	108
ПРИКЛАДНА ГЕНЕТИКА І СЕЛЕКЦІЯ	
АРТЕМЧУК І.П. ЕФЕКТИВНІСТЬ МУТАГЕННИХ ЧИННИКІВ У ІНДУКУВАННІ ПРАКТИЧНО- ЦІННИХ МУТАЦІЙ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ.....	114
АСАДОВ Ш.И., ГУСЕЙНОВА Л.А., АБДУЛАЛИЕВА Г.С., ЮНУСОВА Ф.М. СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ ХЛОПЧАТНИКА И МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОТБОРА	117
БАТУРИН С.О., КУЗНЕЦОВА Л.Л. СЕГРЕГАЦИЯ ПРИЗНАКА «ОКРАСКА ВЕНЧИКА» В ИНБРЕДНЫХ ПОТОМСТВАХ РОЗОВОЦВЕТКОВОЙ КРУПНОПЛОДНОЙ ЗЕМЛЯНИКИ (<i>FRAGARIA</i> × <i>ANANASSA DUCH.</i>).....	121
БІЛЯВСЬКА Л.Г., КОРНЄЄВА М.О. СТРУКТУРА ГЕНОТИПОВОЇ МІНЛИВОСТІ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК ГІБРИДІВ F ₁ СОЇ.....	125
БУЙДІН Ю.В. УСПАДКУВАННЯ ОКРЕМИХ ДЕКОРАТИВНИХ І ГОСПОДАРСЬКО-ЦІННИХ ОЗНАК СІЯНЦЯМИ <i>ASTILBE</i> BUCH. – НАМ. EX D.DON ВІД СПОНТАННОГО ПЕРЕЗАПИЛЕННЯ.....	131
БУРДЕНЮК-ТАРАСЕВИЧ Л.А. ХАРАКТЕР УСПАДКУВАННЯ ОЗНАК <i>T. SPELTA</i> L. ЧОРНОБИЛЬСЬКИМИ МУТАНТАМИ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ.....	135
ВИРОВЕЦЬ В.Г., ЛАЙКО І.М., КИРИЧЕНКО Г.І., ГОРШКОВА Л.М. НЕВИЧЕРПНІ МОЖЛИВОСТІ ДОБОРУ НА ПРИКЛАДІ ПОСІВНИХ КОНОПЕЛЬ.....	140
ВІРИЧ П.А., МАКОВЕЙЧУК Т.І., КАМЕНЧУК О.П. ВПЛИВ ТРИНЕКСАПАК-ЕТИЛУ НА НАКОПИЧЕННЯ ОРТОФОСФАТІВ РОСЛИНАМИ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ (<i>TRITICUM AESTIVUM</i> L.).....	145
ВЛАСЕНКО В.А., ОСЬМАЧКО О.М., БАКУМЕНКО О.М. СТІЙКІСТЬ ПРОТИ БУРОЇ ІРЖІ У КОМЕРЦІЙНИХ СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ З ПШЕНИЧНО-ЖИТНИМИ ТРАНСЛОКАЦІЯМИ.....	148

ВОЖЕГОВА Р.А., ЛАВРИНЕНКО Ю.О., ЛАШИНА М.В. РОЗРОБКА МОДЕЛЕЙ ГІБРИДІВ КУКУРУДЗИ ГРУП ФАО 150-600 В УМОВАХ ЗРОШЕННЯ.....	152
ГОРДЕЙ И.С., БЕЛЬКО Н.Б., ГОРДЕЙ И.А. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ДУПЛИКАЦИИ ГЕНОМА У РЖИ (<i>SECALE CEREALE</i> L.).....	156
ГОРШКОВА Л.М., БОГДАНОВА А.С., ВИРОВЕЦЬ В. Г. УСПАДКУВАННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК ЗАЛОЗИСТИХ ВОЛОСКІВ В ПОТОМСТВІ.....	161
ДРАГУЛЯН М.В., С.О. КОСТЕНКО, О.В. СИДОРЕНКО ЗВ'ЯЗОК СТАБІЛЬНОСТІ ГЕНОМУ З РІЗНИМИ ГЕНОТИПАМИ ГЕНІВ ВІДТВОРЕННЯ СВИНОМАТОК.....	166
ЄМЕЦЬ З.В., МАМЕНКО О.М., ХРУЦЬКИЙ С.С. ЗМІНИ БІЛКОВОМОЛОЧНОСТІ КОРІВ ПІД ВПЛИВОМ НЕГАТИВНИХ ФАКТОРІВ БІОГЕОХІМІЧНОЇ ПРОВІНЦІЇ.....	170
ЖУКОВ В.А., СУЛИМА А.С., ЖЕРНАКОВ А.И., ШТАРК О.Ю., БОРИСОВ А.Ю., ТИХОНОВИЧ И.А. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ ДЛЯ СЕЛЕКЦИИ НОВЫХ СОРТОВ ГОРОХА, УСТОЙЧИВЫХ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ	173
ЗАДОРЖНА О. А. ПОЛІМОРФІЗМ МАРКЕРНИХ ЛОКУСІВ, ЗЧЕПЛЕНИХ З QTL, ЩО КОНТРОЛЮЮТЬ ОЗНАКИ НАСІННЯ	177
ЗАХАРОВА В.А., ЗАХАРОВ М.В., ХИЛЬКО В.Т. СЕЛЕКЦІЯ ЯБЛУНІ НА ПОЛІПЛОЇДНОМУ РІВНІ	181
КАТЕРИНЧУК О. М., ЧУГУНКОВА Т. В. ОПТИМАЛЬНІ ДОЗИ ХІРАЛЬНИХ МУТАГЕНІВ В ІНДУКУВАННІ ВИДИМИХ МУТАЦІЙ НА ОЗИМІЙ М'ЯКІЙ ПШЕНИЦІ	184
КОВАЛЕВА Л.В., ЗАХАРОВА Е.В., ТИМОФЕЕВА Г.В., УСТИНОВА А.В., РАКИТИН В.Ю. ЭТИЛЕН В ПРОГАМНОЙ ФАЗЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ У ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ.....	187
КОЗАЧЕНКО М. Р., СОЛОНЕЧНИЙ П. М. ГЕНЕТИЧНІ ОСНОВИ СЕЛЕКЦІЇ НА РОЗШИРЕННЯ РІЗНОВИДНІСНОГО РІЗНОМАНІТТЯ ЯЧМЕНЮ ЯРОГО	191
КОРНЄЄВА М.О., НЕНЬКА О.В. ВИКОРИСТАННЯ ДІАЛЕЛЬНИХ СХРЕЩУВАНЬ ДЛЯ СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНОЇ ОЦІНКИ УРОЖАЙНОСТІ ЗАПИЛЮВАЧІВ ЦУКРОВИХ БУРЯКІВ	195
КОРНІЄНКО С.І., ГОРОВА Т.К. КОМБІНАТИВНА ВНУТРІШНЬОВИДОВА ГІБРИДИЗАЦІЯ В СЕЛЕКЦІЇ <i>BETA VULGARIS</i> L.	199
КОРШИКОВ И.И., ДЕМКОВИЧ А.Е., МАКОГОН И.В., КАЛАФАТ Л.А., БАГДАСАРОВА А.Р. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПЛЮСОВЫХ ДЕРЕВЬЕВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ПО ИЗОФЕРМЕНТНЫМ И МИКРОСА ТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ	202

ЛАЦКО Т.А. ОЦЕНКА НАСЛЕДОВНИЯ СРОКА СОЗРЕВАНИЯ ПЛОДОВ В ГИБРИДНОМ ПОТОМСТВЕ <i>PERSIC VULGARIS</i> MILL.....	206
МАЛЕЦКАЯ Е.И., ЮДАНОВА С.С. ЦИТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИКСОПЛОИДИИ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ В АПОЗИГОТИЧЕСКИХ ПОТОМСТВАХ ГАПЛОИДНЫХ РАСТЕНИЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ	210
МАМАЛИГА В.С., КОНДРАТЕНКО М.І., БУГАЙОВ В.Д., ЯНЧУК В.І. АНАЛІЗ УСПАДКУВАННЯ ДЕЯКИХ КІЛЬКІСНИХ ОЗНАК ГОРОХУ ПОСІВНОГО	214
МИХАЙЛОВА М.Е., БЕЛАЯ Е.В., ТИХАНОВИЧ Н.И., ХОТЛЯНИК Н.В. ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ СЕЛЕКЦИОННОГО ПОГОЛОВЬЯ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ГОЛШТИНСКОЙ И БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОД ПО ГЕНУ ПРОЛАКТИНА (<i>BPRL</i>)	219
МОЦНЫЙ И.И., КУЛЬБИДА М.П., ЗАМБРИБОРЩ И.С., ЛОБАНОВА Е.И., ЧЕБОТАРЬ Г.А., ЧЕБОТАРЬ С.В., БОЙКО М.С. ВЛИЯНИЕ ФАКТОРОВ АНДРОГЕНЕЗА <i>IN VITRO</i> НА ПРИЗНАКИ УДВОЕННЫХ ГАПЛОИДОВ ПШЕНИЦЫ	222
НОВИКОВА Т.Н. КЛИМАТИПЫ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ ИЗ ЮЖНЫХ РАЙОНОВ СИБИРИ В ГЕОГРАФИЧЕСКИХ КУЛЬТУРАХ В ЗАПАДНОМ ЗАБАЙКАЛЬЕ	226
ПОДОБА Б.Є., ГУЗЄВ І.В., СИДОРЕНКО О.В., ГУЗЄЄВ Ю.В. ХАРАКТЕРИСТИКА ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ ЗА ЕРИТРОЦИТАРНИМИ АНТИГЕНАМИ.....	230
ПОДОБА Ю.В., ЯЩУК Т.С., ДОБРЯНСЬКА М.Л., БЕРЕЗОВСЬКИЙ О.В., ДЖУС П.П., КОПИЛОВ К.В., КОПИЛОВА К.В., СИДОРЕНКО О.В. ДОСЛІДЖЕННЯ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЧЕРВОНОЇ ПОЛЬСЬКОЇ ПОРОДИ ЗА ГЕНАМИ КАПА-КАЗЕЇНУ (<i>CSN3</i>) ТА БЕТА-ЛАКТОГЛОБУЛІНУ (<i>BLG</i>).....	234
РУБАН С.Ю., БІРЮКОВА О.Д., БАСОВСЬКИЙ Д.М. МОНІТОРИНГ ІНБРИДИНГУ СЕРЕД ГОЛШТИНСЬКИХ БУГАЇВ В УКРАЇНІ.....	237
САЛОГУБ А.М., ХМЕЛЬНИЧИЙ Л.М. СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПЕРСПЕКТИВА СЕЛЕКЦІЇ ГЕНОФОНДНОГО СТАДА ЛЕБЕДИНСЬКОЇ ПОРОДИ	240
СЕРГЕЕВ Е.Г., САФРОНОВА Л.Д. СТИМУЛИРОВАНИЕ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНОЙ СПОСОБНОСТИ МОЛОДЫХ САМОК СОБОЛЕЙ ФЕРМЕРСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ	244
СИВОЛАП Ю.М. ЭВОЛЮЦИЯ ГЕНОМА И МАРКЕРНАЯ СЕЛЕКЦИЯ РАСТЕНИЙ	247
СИДОРЧУК В.И., КУЛИК Л.А. О ВЛИЯНИИ ЭДАФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА СЕЛЕКЦИОННЫЙ ПРОЦЕСС (ИЗ ИСТОРИИ СЕЛЕКЦИИ ВИКИ ЯРОВОЙ НА БЕЛОЦЕРКОВСКОЙ ОПЫТНО-СЕЛЕКЦИОННОЙ СТАНЦИИ)	250
СПРАЦЬКИЙ Й. З., БОЙКО О. В., КУЗЕБНИЙ С. В., ФЕДОРОВИЧ В. В. ПОКАЗНИКИ СПЕРМОПРОДУКТИВНОСТІ ТА МОРФО-ФІЗІОЛОГІЧНІ ПАРАМЕТРИ СПЕРМИ БУГАЇВ ГОЛШТИНСЬКОЇ ПОРОДИ	254

**СУПРУН С.М., ДОНЧЕНКО Г.В., ПАРХОМЕНКО Ю.М., ХАРКЕВИЧ Е.С.,
СТЕПАНЕНКО С.П., ЛЯСОТА В.П., СИДНИЧЕНКО И.В., КУЧМЕРОВСКАЯ Т.М.**
ВИТАМИННО-ПРОТЕИНОВЫЙ ПРОДУКТ НА ОСНОВЕ СЕЛЕКЦИОНИРОВАННЫХ
ШТАММОВ ГРИБОВ: ХАРАКТЕРИСТИКА И ПРИМЕНЕНИЕ 258

ТИМИНА О.О., ТИМИН О.Ю., ТОМЛЕКОВА Н., ВАЛЧЕВ Н.Ю.
НАПРАВЛЕНИЯ И РЕЗУЛЬТАТЫ СЕЛЕКЦИИ ОВОЩНОГО ПЕРЦА ДЛЯ УСЛОВИЙ
ПРИДНЕСТРОВЬЯ И РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ 262

ХЛЕБНИКОВ В.Ф., СМУРОВА Н.В.
ФЛУКТУАЦИЯ МАССЫ СЕМЕНИ *CUCURBITA PEPO* VAR. *GIRAMONTIA* DUCH. В
ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНОТИПА И ПОГОДНЫХ УСЛОВИЙ ГОДА РЕПРОДУКЦИИ 266

**ЮДАНОВА С.С., МЕЛЕНТЬЕВА С.А., МАЛЕЦКАЯ Е.И., ТАТУР И.С.,
МАЛЕЦКИЙ С.И.**
ХОЗЯЙСТВЕННАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ ДИГАПЛОИДОВ И УДВОЕННЫХ
ГАПЛОИДОВ У САХАРНОЙ СВЕКЛЫ (*BETA VULGARIS* L.) 270

ГЕНЕТИКА ЛЮДИНИ ТА МЕДИЧНА ГЕНЕТИКА

**АГДЖОЯН А.Т., УТЕВСКАЯ О.М., СХАЛЯХО Р.А., ДИБИРОВА Х.Д.,
ПОЧЕШХОВА Э.А., ЮСУПОВ Ю.М., МАНСУРОВ Р.И., НАУМОВА Е. А.,
АТРАМЕНТОВА Л.А., БАЛАНОВСКАЯ Е.В.: БАЛАНОВСКИЙ О.П.**
СЛЕДЫ ДРЕВНИХ МИГРАЦИЙ В ГЕНОФОНДЕ КРЫМСКИХ И КАЗАНСКИХ
ТАТАР: АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА Y-ХРОМОСОМЫ 276

**АТРАМЕНТОВА Л.А., ГОРШУНСКАЯ М.Ю., КАРАЧЕНЦЕВ Ю.И.,
КРАВЧУН Н.А., ТЫЖНЕНКО Т.В., ПОЧЕРНЯЕВ А.К., ОПАЛЕЙКО Ю.А.,
ПОЛТОРАК В.В.**
ЗНАЧЕНИЕ ОДНОНУКЛЕОТИДНОГО ПОЛИМОРФИЗМА +276G/T ГЕНА
АДИПОНЕКТИНА (*ADIPOQ*) В ФОРМИРОВАНИИ РИСКА САХАРНОГО
ДИАБЕТА 2 ТИПА 280

АЦАЕВА М.М., КОЛОМИЕЦ О.Л.
ИММУНОФЛУОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ НАРУШЕНИЙ В СТРУКТУРЕ
СИНАПТОНОМНЫХ КОМПЛЕКСОВ, ВЫЗВАННЫХ КСЕНОБИОТИКАМИ
В СПЕРМАТОЦИТАХ МШИ 284

БАТУРИНА О.А., ТУПИКИН А.Е., БОНДАРЬ А.А., МОРОЗОВ И.В.
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПЕКТРА МУТАЦИЙ ГЕНА
ФЕНИЛАЛАНИНГИДРОКСИЛАЗЫ В НОВОСИБИРСКОЙ И КЕМЕРОВСКОЙ
ОБЛАСТЯХ 287

ГЕНИК-БЕРЕЗОВСЬКА С.О.
ОЦІНКА РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ ПРИРОДЖЕНИХ ВАД РОЗВИТКУ СЕРЕД
НОВОНАРОДЖЕНИХ ЛЬВІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ ЗА ПЕРІОД 2002-2012 РОКІВ 291

ГОРПИНЧЕНКО М.Ю., УТЕВСКАЯ О.М., АТРАМЕНТОВА Л.А.
МИГРАЦИОННАЯ СТРУКТУРА НАСЕЛЕНИЯ ВАЛКОВСКОГО РАЙОНА
ХАРЬКОВСКОЙ ОБЛАСТИ ПО ДАННЫМ О КВАЗИГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЁРАХ 296

**ДИБКОВ М.В., ЗАВЕЛЕВИЧ М.П., ГЛУЗМАН Д.Ф., ПОЛЩУК Л.О.,
МАЛЮТА С.С., ТЕЛЕГЕСВ Г.Д.**
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИ МЕТОДИ В ДІАГНОСТИЦІ ГОСТРИХ ЛЕЙКЕМІЙ 299

ЗУЕВА М.И., ПАРФЁНОВА Д.О., АТРАМЕНТОВА Л.А. ОДНОНУКЛЕОТИДНЫЙ И ИНСЕРЦИОННО-ДЕЛЕЦИОННЫЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА FLG ЧЕЛОВЕКА ПРИ КОЖНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ	303
КАРПОВА І.С., ЛИЛО В.В., КОЦАРЕНКО К.В., РУБАН Т.П., МАЦЕВИЧ Л.Л. ЛУКАШ Л.Л. ЛЕКТИН <i>PHASEOLUS VULGARIS</i> (РНА) ЯК ПОТЕНЦІЙНИЙ МОДУЛЯТОР ЗАХИСНИХ ТА РЕПАРАТИВНИХ ПРОЦЕСІВ В КЛІТИНІ	306
КОМИССАРОВА С.М., ЧАКОВА Н.Н., КРУПНОВА Э.В., МИХАЛЕНКО Е.П., ЧЕБОТАРЕВА Н.В., НИЯЗОВА С.С. ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ БЛОКАТОРАМИ РЕЦЕПТОРОВ АНГИОТЕНЗИНА II БОЛЬНЫХ ГИПЕРТРОФИЧЕСКОЙ КАРДИОМИОПАТИЕЙ	310
КУШНІРУК В.О., РУБАН Т.П., ЛУКАШ Л.Л. МОРФОЛОГІЧНІ ТА РОСТОВІ ОСОБЛИВОСТІ НОВОЇ ЛІНІЇ КЛІТИН ЛЮДИНИ 4ВL	315
МАКУХ Г.В., ГНАТЕЙКО О.З. РОЗРОБКА ПІДХОДІВ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ СЕГРЕГАЦІЙНОЇ СКЛАДОВОЇ ГЕНЕТИЧНОГО ТЯГАРЯ У ЛЮДИНИ	319
НЕУМЕРЖИЦЬКА Л.В., КЛИМЕНКО С.В., КОВАЛЬ Г.М., ВЕРБИЛЕНКО Р.М., ШКАРУПА В.Н. ОЦІНКА ХРОМОСОМНИХ ПОРУШЕНЬ В СОМАТИЧНИХ КЛІТИНАХ ХВОРИХ НА РАК ЩИТОПОДІБНОЇ ЗАЛОЗИ, ЩО ПОСТРАЖДАЛИ ВІД ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ АВАРІЇ	323
РЫМАРЬ С.Е., РАЧКЕВИЧ Н.О., КУЛАЧКО А.В., РУБАН Т.А., КОРДЮМ В.А. ИНКАПСУЛИРОВАННЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫЕ КЛЕТКИ СНО- K1 КАК ИСТОЧНИК РЕКОМБИНАНТНОГО FGF2 ЧЕЛОВЕКА	326
СОСНІНА К.О. ДОСЛІДЖЕННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ ІНСЕРЦІЯ/ДЕЛЕЦІЯ 14 П.Н. ГЕНА НЕКЛАСИЧНОГО АНТИГЕНА HLA-G ПРИ НАВИКОВОМУ НЕВИНОШУВАННІ ВАГІТНОСТІ НЕЗ'ЯСОВАНОГО ГЕНЕЗУ	330
ТИРКУС М.Я. ЧАСТОТА МУТАЦІЇ CCR2-64I ГЕНА ХІМОКІНОВОГО РЕЦЕПТОРА <i>CCR2</i> , ЩО АСОЦІЮЄТЬСЯ З УПОВІЛЬНЕННЯМ ПРОГРЕСУВАННЯ СНІДУ СЕРЕД ЖИТЕЛІВ ЗАХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ	334
УТЕВСКАЯ О. М., АГДЖОЯН А. Т., ПШЕНИЧНОВ А. С., ДИБИРОВА Х. Д., ЧУХРЯЕВА М. И., АТРАМЕНТОВА Л. А., БАЛАНОВСКАЯ Е.В., БАЛАНОВСКИЙ О. П. СХОДСТВО УКРАИНСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ ТЕРРИТОРИАЛЬНЫХ ПОДРАЗДЕЛЕНИЙ ПО МАРКЕРАМ Y-ХРОМОСОМЫ	338
ФЕДОТА А.М. АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ГЕНЕТИКО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ (ЧИСЛЕННОСТИ И ПОЛОВОЗРАСТНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК НАСЕЛЕНИЯ) МАЛЫХ ГОРОДОВ И СЕЛ ВОСТОЧНОЙ УКРАИНЫ	341
ФЕДОТА А.М., БЕЛЯЕВА Л.В., СОЛОДЯНКИН А.С., АДМАКИНА А. В. АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНА <i>MTHFR</i> С ОНКОПАТОЛОГИЯМИ У ПРОБАНДОВ С ПСОРИАЗОМ И ИХ РОДСТВЕННИКОВ	345
ШЕМЕТУН Е. В., ТАЛАН О. А., ПИЛИНСКАЯ М. А. РАДИОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ КОМПЛЕКСНОГО ВИТАМИННОГО ПРЕПАРАТА «ВЕТОРОН» В КУЛЬТУРЕ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА	349

НАУКОВЕ ВИДАННЯ

**ФАКТОРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ
ЕВОЛЮЦІЇ ОРГАНІЗМІВ**

**ФАКТОРЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ЭВОЛЮЦИИ ОРГАНИЗМОВ**

**FACTORS IN EXPERIMENTAL
EVOLUTION OF ORGANISMS**

**Збірник наукових праць
ТОМ 13**

Технічні редактори: *М. З. Мосула, О. Ю. Майорова*
Комп'ютерна верстка *О. В. Лохвицький*
Коректура автора
Художнє оформлення *Є. Ю. Музиченка*

Підписано до друку 01.07.2013. Формат 60×84¹/₈. Папір офс. № 1.
Гарнітура “Таймс”. Друк офс. Ум. друк. арк. 42,0 Обл.-вид. арк. 43,9
Наклад 300 прим. Зам. 404.

Віддруковано у видавництві “ЛОГОС” з оригіналів автора.
Свідоцтво ДК № 201 від 27.09.2000 р.
01030, Київ-30, вул. Богдана Хмельницького, 10, тел. 235-60-03