

ISSN 1810-7834

ВІСНИК

УКРАЇНСЬКОГО ТОВАРИСТВА
ГЕНЕТИКІВ І СЕЛЕКЦІОНЕРІВ



ТОМ 3

1-2 · 2005

Редакційна колегія:

Шеф-Редактор М.В. РОЇК

Головний редактор В.А. КУНАХ

Заступники головного редактора:

А.А. КОРЧИНСЬКИЙ, Л.Л. ЛУКАШ

І.Р. БАРИЛЯК
Я.Б. БЛЮМ
В.П. БУРКАТ
Н.Г. ГОРОВЕНКО
М.В. ЗУБЕЦЬ

Л.Є. КОВАЛЬЧУК
М.В. КУЧУК
С.С. МАЛЮТА
В.В. МОРГУН
В.Г. МИХАЙЛОВ

Л.А. НАЛЄСКИНА
Т.В. НОВАК
М.А. ПИЛІНСЬКА
Ю.М. СИВОЛАП
В.О. ФЕДОРЕНКО

Редакційна рада:

А. АТАНАСОВ (Болгарія)
Б.В. ДЗЮБЕЦЬКИЙ
В.А. ДРАГАВЦЕВ (Росія)
Н.А. КАРТЕЛЬ (Білорусь)
В.В. КИРИЧЕНКО
Г.І. ЛАЗЮК

Б.П. МАЦЕЛЮХ
М.Д. МЕЛЬНИЧУК
О.О. СОЗІНОВ
А.А. СИБІРНИЙ
Г.В. СКИБАН
А.Х. СТЕЛЬМАХ

В.П. ПАТИКА
В.М. ТОЦЬКИЙ
В.Г. ШАХБАЗОВ
В.К. ШУМНИЙ (Росія)
Т.М. ЧЕЧЕНЄВА
Г. ФЕДАК (Канада)

Відповідальний секретар О.О. ПОРОННИК

Адреса редакції:

Інститут молекулярної біології і генетики НАС України

вул. Акад. Заболотного, 150, Київ

E-mail: kunakh@imbg.org.ua

Editorial board

Chief editor M.V. ROIK

Editor-in-Chief V.A. KUNAKH

Deputy editors: A.A. KORCHINSKIY, L.L. LUKASH

I.R. BARYLYAK
Ya.B. BLUM
V.P. BURKAT
N.G. GOROVENKO
M.V. ZUBETS

L.Ye. KOVALCHUK
N.V. KUCHUK
S.S. MALYUTA
V.V. MORGUN
V.G. MYKHAILOV

L.A. NALESKINA
T.V. NOVAK
M.A. PYLINSKA
Yu.M. SIVOLAP
V.O. FEDORENKO

Editorial Council

A. ATANASOV (Bulgaria)
B.V. DZYUBETSSKIY
V.A. DRAGAVTSEV (Russia)
N.A. KARTEL (Belarus)
V.V. KYRYCHENKO
G.I. LAZIUK (Belarus)

B.P. MATSELYUKH
M.D. MELNYCHUK
O.O. SOZINOV
A.A. SYBIRNIY
G.V. SKYBAN
A.F. STELMAKH

V.P. PATYKA
V.M. TOTSKIY
V.G. SHAKHBAZOV
V.K. SHUMNUY (Russia)
T.M. CHECHENEVA
G. FEDAK (Canada)

Responsible secretary O.O. PORONNYK

Editorial office address:

Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine

150, Zabolotno str., Kyiv, 03143

E-mail: kunakh@imbg.org.ua

ВІСНИК

ТОМ 3

№1-2

2005

УКРАЇНЬСЬКОГО ТОВАРИСТВА
ГЕНЕТИКІВ І СЕЛЕКЦІОНЕРІВ

The Bulletin of Ukrainian Society for Genetics and Selections

ВИХОДИТЬ ДВІЧІ НА РІК • КИЇВ

ЗМІСТ

Оригінальні статті

Файт В. И., Сухоносенко Н. В. Особенности органогенеза, морозостойкость и урожайность различных по генам *vrd* линий озимой мягкой пшеницы

Белошицкий В. В. Основные направления применения генной терапии при черепно-мозговой травме

Башкірова Н. В., Новак Т. В. Експериментальні зміни в системі розмноження люцерни посівної від алогамії до автогамії

Фединяк А. В., Боднар Л. С., Дуган О. М., Баріляк І. Р. Генетичні ефекти поверхневих і підземних вод Львівщини та корекція мутагенних фонів природними або синтетичними сорбентами

Горова А. І., Скворцова Т. В., Клімкіна І. І., Павличенко А. В., Бучавий Ю. В. Цитогенетичний моніторинг довкілля та здоров'я людини

Соколов И. Д., Хаблак С. Г., Сыш Е. И., Сигидиненко Л. И. Совместное влияние мутантных аллелей *ap1-1* и *bp-1* на архитектуру соцветия арабидопсиса (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)

Карпова І. С., Корецька Н. В. Дослідження антимутагенної дії лектину суцвіть бузини з використанням рес - мутантів *Bacillus subtilis*

Кочерга З. Р. Медичні та цитогенетичні наслідки чорнобильської катастрофи серед дітей прикарпаття

Ковальчук Л. Е., Орел Н. О. Трансгенні рослини як модельний об'єкт для визначення інтенсивності мутагенного фону довкілля

Козовий Р. В. Розробка профілактики негативного впливу мутагенних чинників на спадковий апарат людини

CONTENTS

Original Research

3 Fayt V. I., Sukhonosenko N. V. The organogenesis peculiarities, frost resistance and productivity of the winter bread wheat lines different for *Vrd* genes

15 Biloshytskyy V. V. Basic trends of gene therapy use for experimental traumatic brain injury

21 Bashkirova N. V., Novak T. V. The experimental changing in alfalfa reproduction systems from allogamy to autogamy

26 Fedynyak A. V., Bodnar L. S., Dugan A. M., Bariliak I. R. Genetic effects of superficial and underground waters of L'viv region that correction mutagen backgrounds natural or synthetic sorbents

36 Gorova A. I., Skvortsova T. V., Klimkina I. I., Pavlichenko A. V., Buchaviy Yu. V. Cytogenetical monitoring of environment and human health

48 Sokolov I. D., Hablak C. G., Sysh E. I., Sigidinenko L. I. Joint influence mutant alleles *ap1-1* AND *bp-1* on inflorescence architecture *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.

57 Karpova I. S., Koretska N. V. Study of the antimutagenic activity of the lectin from elder inflorescences on rec - mutants of *Bacillus subtilis*

65 Kocherga Z. P. Medical and cytogenetic aftereffect of the chernobyl disaster among the children of subcarpathians

72 Koval'chuk L. E., Orel N. O. Transgenic plants as a model object for estimation of intensity of environmental mutagenic background

80 Kozovyi P. V. Elaboration of prophylaxis of the negative effect of mutagenic agents on the human hereditary apparatus

ЗМІСТ

- Кузёменский А. В.* Взаимодействие мутантных генов активизирующих биогенез β -каротина в плодах томата 86
- Ревега О. М., Боднар Л. С., Дубовицька М. В., Стухляк М. М., Горбулінська С. М.* Застосування природних сорбентів для зменшення мутагенних фонів рідких токсичних стоків з підприємств різних галузей промисловості в тесті Еймса 92
- Стеклонов Е. П.* Гібридизація білошиї гуски (*Anser canagicus Sw.*) з іншими представниками підродини гусячих (*Anserinae*) 104

Оглядіві статті

- Базалій В. В.* Обґрунтування еколого-генетичних основ адаптивної селекції озимої пшениці 115
- Буркат В. П., Дзіцюк В. В., Ковтун С. І.* Прикладні аспекти генетики та біотехнології в тваринництві 131
- Демина Э. А.* Радиобиологические и цитогенетические аспекты действия быстрых нейтронов 145
- Головин В. П., Волкодав В. В.* Физиолого-ботанические особенности, интродукция, селекция и использование амаранта 155
- Шилина Ю. В.* Генетическая нестабильность и эпигенетическая изменчивость как основа адаптации фитопатогенных бактерий к изменениям условий существования 167
- Яловенко О. І., Дуган О. М.* Деякі аспекти безпечності косметичних засобів 187
- Яровий Г. І., Кузьоменський О. В., Плужнікова Л. Є.* Збагачення асортименту овоче-баштанних рослин в Україні 194

Сторінки історії

- Чешко В. Ф.* Страницы истории генетики в Украине и научная школа В. Г. Шахбазова 203

Особистості

- Парій Ф. М.* Професор Ю. П. Мірюта - видатний генетик вавіловської плеяди вчених (до 100-річчя з дня народження) 215

Некролог

- Валерій Гайович Шахбазов (1925 - 2005) 221

Інформація

- Бариліак І. Р.* Проблеми екогенетики в Україні 223

CONTENTS

- Kuzemenskiy A. V.* Interaction of mutant genes, making more active biogenesis of β -carotene in tomato fruits 86
- Revega O. M., Bodnar L. S., Dubovitska M. V., Stuhlyak M. M., Gorbulins'ka S. M.* Application of natural sorbents for reduction of mutagenic backgrounds of liquid toxic drains from enterprises of different branches of industry in Ames test 92
- Steklenev E. P.* Hybridization of the emperor goose (*Anser canagicus Sw.*) with the other representatives of *Anserinae* subfamily 104

Reviews

- Bazaliy V. V.* Substantiations of ecology-genetic bases of adaptive selection winter wheats 115
- Burkat V. P., Dzitsiuk V. V., Kovtun S. I.* The applied aspects of genetic and biotechnology for stock-breeding 131
- Dyomina E. A.* Radiobiological and cytogenetical aspects of the effects of fast neutrons 145
- Golovin V. P., Volkodav V. V.* Physiological and botanical characteristics, introduction, selection and utilization of amaranth 155
- Shilina Y. V.* Genetic instability and epigenetic modification as adaptation basis of phytopathogenic bacteria to condition modification 167

- Yalovenko O., Dugan O.* Some aspects of safety of cosmetic means 187

- Yrovoy G. I., Kuzemeskiy A. V., Pluzhnikova L. Ye.* Enrichment of vegetable and melon plants assortment in Ukraine 194

History pages

- Cheshko V. T.* From history of genetics in Ukraine. Kharkiv genetic scientific school of V. G. Shakhbazov 203

Personalities

- Parii F. M.* Professor Yu. P. Miryuta is eminent geneticist of Vavilov pleiad of scientists (to 100 years from birthday) 215

Nekrolog

- Valerii Gayovich Shachbazov (1925 - 2005) 221

Information

- Baryliak I. R.* Ecogenetic problems in Ukraine 223

УДК 633.11.+575.16

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНОГЕНЕЗА, МОРОЗОСТОЙКОСТЬ И УРОЖАЙНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ПО ГЕНАМ *Vrd* ЛИНИЙ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

В. И. ФАЙТ, Н. В. СУХОНОСЕНКО

Селекционно-генетический институт - Национальный центр
семеноведения и сортоизучения УААН,
65036, Украина, Одесса, Овидиопольская дорога, 3
E-mail: fayt@paco.net

*Показано сокращение продолжительности II этапа органогенеза и периода до колошения, снижение морозостойкости у почти изогенных моногенно доминантных по генам *Vrd1* или *Vrd2* линий сортов озимой мягкой пшеницы Мироновская 808 и Эритроспермум 604. Большой эффект по указанным признакам характерен для гена *Vrd1*, меньший - *Vrd2*. Гены *Vrd1* и *Vrd2* практически не влияли на различия по длине конуса нарастания и количественные характеристики элементов структуры урожая, за исключением массы 1000 зерен. На величину эффектов генов *Vrd1* и *Vrd2* оказывает влияние фотопериодическая чувствительность генотипа рекуррентного родителя.*

*Ключевые слова: продолжительность яровизации, *Vrd* гены, этапы органогенеза, изогенные линии*

Введение. Продолжительность яровизации является одним из важнейших свойств растений озимой мягкой пшеницы, обуславливающих их адаптацию к определенным климатическим условиям. Сорта озимой пшеницы существенно различаются по продолжительности яровизации от 20 до 60 суток [1-4]. Указанные различия влияют на продолжительность периода от всходов до появления цветочных примордиев или так называемого двойного гребешка [5]. При этом более продолжительная потребность в яровизации обуславливает более медленное развитие на начальных стадиях и переход к формированию дифференцированной точки роста и зачатков репродуктивных органов наблюдается значительно позднее [6]. Это не может не сказываться на различиях по устойчивости растений к тем или иным условиям внешней среды, прежде всего зимоморозостойкости и ряду агрономических показателей различающихся по продолжительности яровизации генотипов озимой пшеницы [7, 8].

Показано наличие двух неаллельных генов контролирующих разли-

чия по продолжительности яровизации озимой пшеницы [9]. После предварительных консультаций с R.A.McIntosh этой новой системе генов было предложено присвоить символ *Vrd* от начальных букв английских слов *vernalization requirement duration*, а гены были обозначены *Vrd1* и *Vrd2* соответственно [10]. Создание наборов почти изогенных по генам *Vrd1* и *Vrd2* линий сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604 [11] позволяет оценить эффекты указанных локусов в определении различий по адаптивности и продуктивности в конкретных условиях.

Исходя из этого, целью данной работы было изучение эффектов генов *Vrd* на продолжительность этапов органогенеза, длину конуса нарастания, морозостойкость и компоненты урожая.

Материалы и методы

В качестве исходного материала использовали почти изогенные моногенно доминантные по генам *Vrd1* или *Vrd2* линии сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604. Эти сорта являются рецессивами по данной системе генов, т.е. их генотип - *vrd1vrd2*. Изогенные линии сорта Мироновская 808 сильно чувствительны к фотопериоду, а сорта Эритроспермум 604 средне чувствительны к фотопериоду [14]. Обоим сортам, которые использовались в бекроссной программе в качестве рекуррентных родителей, для перехода к генеративному развитию необходима, как минимум, 50-суточная предварительная яровизация [9]. Введение в их генотип доминантных аллелей генов *Vrd* способствует сокращению продолжительности ярови-

зации у линий Эритроспермум 604-*Vrd1* и Эритроспермум 604-*Vrd2* до 20 и 40 суток соответственно, а линий Мироновская 808-*Vrd1* и Мироновская 808-*Vrd2* до 35 и 45 соответственно [14].

Семена изогенных линий и рекуррентных родителей высевали в оптимальные сроки (3.10.2001) для юга степи Украины на опытном участке отдела генетики СГИ на делянках 3м² сеялкой ССФК-7 с нормой высева 1500 зерен. Повторность опыта трехкратная. Во втором эксперименте семена почти изогенных линий сорта Эритроспермум 604 замачивали в песке, проращивали при комнатной температуре и пятидневные проростки подвергали яровизации в камере КНТ-1 при температуре +2°C и круглосуточном освещении. При этом продолжительность яровизации линии *Vrd1* составляла 25 суток, *Vrd2* - 35, а рекуррентного родителя сорта Эритроспермум 604 - 50 суток. После окончания яровизации проростки всех генотипов в один и тот же день высаживали в оранжерею фитотрона в сосуды емкостью 5 литров по 10 растений на сосуд и выращивали до конца эксперимента на удлиненном фотопериоде (18 часов день + 6 часов ночь) при температуре в дневное время от 21,0 до 25,0°C, в ночное - от 13,0 до 18,0°C.

Оценку морозоустойчивости осуществляли в камере КНТ-1 в бумажных рулонах (проростки) при -11°C [15], а также методом пучков (раскустившиеся растения) при температуре -14°C и -11°C [16]. В последнем случае растения (75-90 штук каждого генотипа) для промораживания отбирали с поля 31.01.02 и 6.03.2002.

Для определения продолжитель-

ности периода до колошения в поле визуально отмечали дату колошения при наличии 75% выколосившихся растений на делянке, а в оранжерее - каждого индивидуального растения при появлении верхушки колоса над лигулой флагового листа. После уборки проводили анализ 75-90 случайных растений каждого генотипа. Учитывали следующие признаки: высота растения, длина главного колоса, количество колосков главного колоса, количество зерен главного колоса и их массу, количество зерен растения и их массу, массу 1000 зерен, количество продуктивных стеблей и урожай зерна.

Морфофизиологический анализ фаз развития растений проводили путем анализа проб растений на стереоскопическом микроскопе МБС-1 по методике Куперман Ф. М. [17]. Пробы в поле отбирали в количестве 15 случайных растений каждого генотипа. Осенью через 10 суток с момента всходов, зимой - во время оттепе-

лей, весной после возобновления вегетации через 5-7 суток до наступления колошения (VIII этап органогенеза). При выращивании в оранжерее отбирали по три растения каждого генотипа через 4-5 суток. По феноменологии конуса нарастания определяли календарное начало соответствующего этапа органогенеза, а также измеряли абсолютную длину конуса нарастания. Статистическую обработку полученных данных проводили по общепринятым методикам [18].

Результаты и обсуждение

Сопоставление продолжительности конкретных этапов органогенеза почти изогенных линий сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604 свидетельствовало о достоверном влиянии генов *Vrd1* и *Vrd2* на темпы прохождения II и III этапов органогенеза. Так, продолжительность II этапа органогенеза у сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604 рецесси-

Таблица 1. Продолжительность этапов органогенеза у моногенно доминантных по генам *Vrd* линий в условиях осеннего посева, сутки (Одесса, поле 2001/02)

Генотип	Этап органогенеза					Итого (период до колошения)
	II	III	IV	V	VI+VII*	
Мироновская 808- <i>Vrd1</i>	57,7	101,7	23,3	24,0	9,0	215,7
Мироновская 808- <i>Vrd2</i>	73,3	83,3	27,7	23,0	10,0	217,3
Мироновская 808- <i>vrd1vrd2</i>	89,0	70,3	21,7	27,0	10,7	218,7
HCP _{0,05}	5,6	11,2	17,6	9,0	2,5	1,6
Эритроспермум 604- <i>Vrd1</i>	32,7	108,0	38,3	28,0	6,3	213,3
Эритроспермум 604- <i>Vrd2</i>	53,7	93,3	31,3	28,7	7,7	214,7
Эритроспермум 604- <i>vrd1vrd2</i>	89,0	65,7	27,3	25,0	8,3	215,3
HCP _{0,05}	4,5	9,0	11,6	8,9	2,2	1,1

* здесь и далее в таблице 2 из-за невозможности четко разграничить VI и VII этапы органогенеза в силу их малой продолжительности данные по указанным двум этапам суммированы.

вов по генам *vrd1vrd2*, несмотря на их различия по фотопериодической чувствительности, составляла у обоих 89 суток (табл. 1).

Это подтверждает данные А.Ф. Стельмаха и В.Р. Мартынюк [19] о том, что различия по генам *Ppd*, контролирующим фотопериодическую чувствительность, у сортов с продолжительной потребностью в яровизации (50-60 суток) не влияют на темпы прохождения II этапа органогенеза осенью в условиях юга степи Украины. Введение в генотип указанных двух сортов доминантного аллеля гена *Vrd1* способствовало достоверному сокращению продолжительности II этапа органогенеза до 25,7 суток у средне чувствительного к фотопериоду сорта Эритроспермум 604 и до 57,7 суток у сильно чувствительного к фотопериоду сорта Мироновская 808. Продолжительность II этапа органогенеза у линий Эритроспермум 604-*Vrd2* и Мироновская 808-*Vrd2* составляла 53,7 и 73,3 суток, соответственно, т.е. эффект гена *Vrd2* по сокращению продолжительности II этапа органогенеза был существенно меньше по сравнению с эффектом гена *Vrd1*. Наличие средней чувствительности к фотопериоду у сорта Эритроспермум 604 приводило к более контрастным различиям почти изогенных по генам *Vrd1* или *Vrd2* линий по продолжительности II этапа органогенеза по сравнению с аналогичными линиями сильно чувствительного к фотопериоду сорта Мироновская 808. Достоверные различия между линиями обоих сортов по продолжительности III этапа органогенеза, на наш взгляд, являются последствием различий по продолжительности II этапа органогенеза. В пользу

такого вывода свидетельствует тот факт, что продолжительность III этапа наиболее велика, независимо от фотопериодической чувствительности рекуррентного родителя, у линий носителей гена *Vrd1*, которым была характерна наименьшая продолжительность II этапа. В свою очередь сорта рекуррентные родители рецессивы по генам *vrd1vrd2* с продолжительным II этапом характеризовались наименьшей продолжительностью III этапа. Линии носители гена *Vrd2* по продолжительности как II, так и III этапов занимали промежуточное положение. Такая зависимость продолжительности последующего этапа от предыдущего обусловлена тем, что у линий носителей гена *Vrd1* III этап начинается в более ранние календарные сроки (середина ноября - середина декабря в зависимости от сорта рекуррентного родителя) и соответственно при низких температурах значительно задерживается последующее развитие. Линии носители гена *Vrd2*, у которых переход к III этапу наблюдали в середине - конце декабря при последующем потеплении и повышении среднесуточной температуры перейдут к интенсивному росту одновременно с линиями носителями гена *Vrd1*, но поскольку первые перешли к III этапу позже по сравнению со вторыми, то продолжительность этапа у них соответственно сократится. Еще большее сокращение III этапа должно быть у рецессивных генотипов, которые заканчивают II этап в середине января, что и подтверждается экспериментальными данными. Аналогичную закономерность наблюдали и по продолжительности IV этапа органогенеза, если в качестве точки отсчета использовать суммарную продолжи-

тельность II+III этапов органогенеза. Хотя продолжительность IV этапа органогенеза, как и продолжительность V и VI+VII этапов органогенеза не зависела от наличия / отсутствия в генотипе линии как сильно чувствительного к фотопериоду сорта Мироновская 808, так и средне чувствительного сорта Эритроспермум 604, того или иного доминантного аллеля гена *Vrd* (различия были недостоверны). При этом различия между моногенно доминантными линиями по продолжительности периода до колошения практически определялись продолжительностью первых двух этапов (II, III). Независимо от фотопериодической чувствительности генотипа рекуррентного родителя достоверно более раннее колошение отмечали у линий носителей гена *Vrd1*. Эффект гена *Vrd2* по ускорению колошения был несколько меньшим по сравнению с таковым гена *Vrd1* и не существенным. Почти изогенные линии по генам *Vrd1* и *Vrd2* средне чувствительного к фотопериоду сорта Эритроспермум 604 колосились несколько раньше аналогичных линий сильно чувствительного к фотопериоду сорта Мироновская 808.

Таким образом, введение в генотипы сортов с длительной потребностью в яровизации Мироновская 808 и Эритроспермум 604 доминантных аллелей генов *Vrd1* и *Vrd2* способствует в полевых условиях юга степи Украины сокращению продолжительности II этапа органогенеза и, как следствие, изменяет продолжительность III этапа. В конечном итоге различия по продолжительности II и III этапов органогенеза определяют различия изучаемых линий по продолжительности периода до колошения.

Являются ли различия по продолжительности II этапа органогенеза результатом различий линий по генам *Vrd*? Для ответа на данный вопрос провели модельный эксперимент. Пятидневные проростки почти изогенных линий сорта Эритроспермум 604 подвергали предварительной, искусственной яровизации, дифференцированно, в зависимости от генотипа линии: Эритроспермум 604-*Vrd1* - 25 суток, Эритроспермум 604-*Vrd2* - 35 суток, Эритроспермум 604-*vrd1vrd2* - 50 суток. После окончания яровизации их высаживали в один и тот же день в оранжерею фитотрона. Если различия по продолжительности II этапа органогенеза обусловлены эффектами генов *Vrd*, которые контролируют различия по продолжительности яровизации, то предварительная искусственная яровизация приведет к физиологическому нивелированию различий линий по генам указанной генетической системы. В таком случае, при одновременном окончании яровизации и последующем выращивании растений в оранжерею фитотрона или весной в поле, между тремя линиями не должно наблюдаться различий по продолжительности II этапа органогенеза, а в силу их последствия и по продолжительности III этапа. В противном случае должны будут выявляться достоверные различия по продолжительности данных этапов органогенеза. Результаты изучения почти изогенных по генам *Vrd1* и *Vrd2* линий сорта Эритроспермум 604 в оранжерею фитотрона после предварительной минимальной для каждого генотипа яровизации выявили практически одинаковую продолжительность II этапа органогенеза всех линий (табл. 2).

Таблица 2. Продолжительность этапов органогенеза у моногенно доминантных по генам *Vrd* линий сорта Эритроспермум 604 в условиях фитотрона после яровизации, сутки

Генотип	Яровизация, сутки	Этап органогенеза					Итого
		II	III	IV	V	VI+VII	
Эритроспермум 604- <i>Vrd1</i>	25	20,0	8,3	7,0	8,0	12,7	56,0
Эритроспермум 604- <i>Vrd2</i>	35	20	10,0	8,0	8,0	11,7	57,7
Эритроспермум 604- <i>vrd1vrd2</i>	50	23,0	10,0	7,7	8,0	11,7	60,4
F критерий		1,0	0,8	0,2	0,0	0,1	1,0

Критерий F Фишера был равен 1,0, что существенно ниже $F_{\text{табличного}}=5,14$ при df генотипа=2 и df остатка=6. При этом различия по продолжительности всех последующих этапов у различных по генам *Vrd* линий также выявились не существенными. Следовательно, гены *Vrd* контролируют различия по продолжительности II этапа органогенеза, т.е. продолжительность вегетативной фазы развития.

Контролируя особенности яровизационных реакций и как следствие продолжительность отдельных этапов органогенеза, гены *Vrd* могут иметь первостепенное значение для формирования устойчивости растений к возможным стрессовым факторам, в частности морозостойкости. Наряду с продолжительностью этапов органогенеза важной характеристикой при оценке устойчивости к морозу является длина конуса нарастания [20]. Влияние *Vrd* генотипа на длину конуса нарастания почти изогенных линий в значительной степени зависело от фотопериодической чувствительности генотипа сорта рекуррентного родителя (табл. 3). Так, почти изогенные линии сильно чувствительного к фотопериоду сорта Мироновская 808 не различались между собой по данному показателю на

протяжении всего периода вегетации. Критерий F Фишера варьировал от 0,01 до 4,53, в зависимости от даты взятия проб растений в поле, что существенно ниже $F_{\text{табличного}}=5,14$ при df генотипа=2 и df остатка=6).

У линий средне чувствительного к фотопериоду сорта Эритроспермум 604 на протяжении первого месяца роста осеннего периода вегетации в полевых условиях (17.X - 14.XI) различия по длине конуса между линиями указанного сорта были не существенными. Но уже по состоянию на 14.XI отмечали тенденцию удлинения конуса у линии Эритроспермум 604-*Vrd1*. При дальнейших наблюдениях осенью (24.XI) длина конуса нарастания линии Эритроспермум 604-*Vrd1* была существенно больше по сравнению с таковой линией Эритроспермум 604-*Vrd2* и рецессивным по генам *vrd1vrd2* исходным сортом Эритроспермум 604. Различия по длине конуса нарастания между Эритроспермум 604-*Vrd1* с одной стороны и Эритроспермум 604-*Vrd2*, исходным сортом Эритроспермум 604, с другой стороны, сохраняются в течение зимы и имеют тенденцию к увеличению после возобновления весенней вегетации. Такое поведение линии Эритрос-

пермум 604-*Vrd1* обусловлено взаимодействием гена *Vrd1* с геном *Ppd-D1a*, который определяет среднюю степень чувствительности сорта Эритроспермум 604 к фотопериоду. Фотопериодическая чувствительность как система контроля темпов развития проявляет свое действие на III-V этапах органогенеза, а наибольший эффект по ускорению развития наблюдается на III этапе органогенеза [21]. Линия Эритроспермум 604-*Vrd1* по состоянию на 14.XI уже закончила II этап органогенеза и перешла к III этапу органогенеза. В условиях постоя-

нно уменьшающегося естественного дня (9 часов 42 минуты на 11.XI) за счет гена *Ppd-D1a* ускоряется развитие указанной линии. Линии Эритроспермум 604-*Vrd2* и рецессивный по генам *vrd1vrd2* исходный сорт Эритроспермум 604 на указанную дату еще находятся на II этапе органогенеза, и экспрессия гена *Ppd-D1a* у указанных линий еще не выявляется.

Указанной причиной обусловлена и тенденция к увеличению длины конуса у линии Эритроспермум 604-*Vrd2* по сравнению с рецессивным по генам *vrd1vrd2* исходным сортом

Таблица 3. Длина конуса нарастания почти изогенных и конгенных линий по генам *Vrd* сортов Эритроспермум 604 и Мироновская 808, мм (Одесса поле 2001/02)

Дата	Эритроспермум 604				Мироновская 808			
	рецессив	<i>Vrd1</i>	<i>Vrd2</i>	HCP _{0,05}	рецессив	<i>Vrd1</i>	<i>Vrd2</i>	F критерий
17.X	0,023	0,022	0,022	0,005	0,022	0,020	0,021	0,009
24.X	0,058	0,057	0,053	0,010	0,058	0,57	0,057	0,099
31.X	0,067	0,073	0,071	0,008	0,070	0,069	0,067	1,018
7.XI	0,081	0,085	0,079	0,011	0,079	0,078	0,076	0,945
14.XI	0,098	0,136	0,099	0,041	0,094	0,093	0,092	0,239
21.XI	0,103	0,144	0,106	0,032	0,094	0,102	0,094	4,533
31.I	0,108	0,161	0,115	0,036	0,104	0,109	0,106	0,981
7.II	0,114	0,187	0,122	0,043	0,115	0,112	0,108	0,966
5.III	0,144	0,281	0,148	0,114	0,131	0,153	0,136	2,345
11.III	0,162	0,300	0,206	0,125	0,163	0,176	0,174	1,789
19.III	0,270	0,439	0,273	0,111	0,250	0,243	0,259	0,934
3.IV	0,458	0,744	0,540	0,217	0,479	0,441	0,465	0,807
9.IV	0,512	0,817	0,586	0,127	0,546	0,522	0,520	0,354
16.IV	0,776	1,813	0,849	0,121	0,696	0,758	0,762	2,052
23.IV	1,791	4,955	1,817	1,021	1,610	1,516	1,623	0,129
30.IV	20,233	71,100	23,360	13,581	9,018	18,105	14,883	2,503
7.V	83,600	107,000	75,000	23,606	55,000	54,783	56,100	0,011
14.V	115,967		104,967	17,151	109,567	107,383	106,100	0,173
HCP _{0,05}	3,250	2,340	3,190	-	6,293	1,133	0,963	-

Эритроспермум 604 при зимних оттепелях и весной. Первая закончила II этап органогенеза практически на 35 дней раньше по сравнению со вторым. Однако в условиях постоянно увеличивающегося естественного дня (до 14 часов 48 минут по состоянию на 11.V) эффект генов *Ppd* по темпам роста длины конуса значительно ослабевает по сравнению с условиями сильно укороченного дня осени и начала зимы [22]. Окончание V этапа органогенеза и повышение температуры в начале мая, видимо, способствовало более полной реализации генетического потенциала исходного сорта Эритроспермум 604 по длине конуса нарастания. В резу-

льтате этого последние две недели до колошения (после 30.IV) уже рецессивная по генам *vrd1vrd2* линия сорта Эритроспермум 604 характеризовалась тенденцией к увеличению длины конуса по сравнению с линией Эритроспермум 604-Vrd2.

Различия по продолжительности этапов органогенеза и длине конуса нарастания приводили к достоверным различиям по морозостойкости проростков (рулоны, -11°C) и раскутившихся растений почти изогенных линий сорта Эритроспермум 604 по состоянию на 30.I.02 (пучки, -14°C) и 3.II.02 (пучки, -11°C) (табл. 4). Большая длина конуса нарастания у линии Эритроспермум 604-Vrd1 способст-

Таблица 4. Средние значения признаков почти изогенных по генам *Vrd* линий сортов Мироновская 808 и Эритроспермум 604, Одесса, поле 2001/2002

Признаки	Мироновская 808				Эритроспермум 604			
	рецессив	<i>Vrd1</i>	<i>Vrd2</i>	HCP _{0,05}	рецессив	<i>Vrd1</i>	<i>Vrd2</i>	HCP _{0,05}
ВР, см	117,0	113	109	-	74	74	77	-
ДГК, см	9,6	9,4	9,6	-	10,3	10,7	9,4	-
ККГК, шт.	15,6	16,3	16,2	-	18,0	18,0	16,0	-
КЗГК, шт.	28	30	30	-	34	28	23	-
МЗГК, г	0,9	1,2	1,3	-	1,4	1,3	1,1	-
КЗР, шт.	54	57	60	-	63	48	49	-
МТЗ, г	35	34	36	0,9	33	35	37	2,4
МЗР, г	1,8	2,0	2,6	-	2,2	1,9	2,0	-
КПС, шт/м ²	565	541	527	-	586	540	508	-
УЗ, г/дел	955	791	893	-	1021	1215	925	-
Морозостойкость:								
проростки 11°C	75	38	68	24	59	48	54	9
пучки 14°C	100	97	100	-	98	34	96	20
пучки 11°C	98	92	93	-	97	65	92	6

вовала значительному снижению морозостойкости по сравнению с рекуррентным родителем. Ген *Vrd2* в генотипе сорта Эритроспермум также способствовал снижению морозостойкости, однако различия с исходным рецессивным по генам *vrd1vrd2* рекуррентным родителем оказались не существенными.

Отсутствие различий по длине конуса нарастания у линий сорта Мироновская 808 сопровождалось и отсутствием достоверных различий между линиями по морозостойкости, оцененной методом пучков. Скорее всего, это связано с недостаточным воздействием стрессового фактора. Сорт Мироновская 808 характеризуется довольно высокой комплексной устойчивостью к факторам перезимовки [23]. При промораживании растений изогенных линий сорта Мироновская 808 в рулонах наблюдали достоверные различия по морозостойкости. При этом, как и у линий сорта Эритроспермум 604, наименее морозостойкой выявилась линия Мироновская 808-*Vrd1*. Морозостойкость линии Мироновская 808-*Vrd2* была существенно выше линии Мироновская 808-*Vrd1*, но меньше по сравнению с рекуррентным родителем сортом Мироновская 808 (рецессив - *vrd1vrd2*). Несмотря на наличие генетических различий по длине конуса нарастания у линий сорта Эритроспермум 604 и их отсутствие у линий сорта Мироновская 808 были выявлены существенные (при $P=0,05$) генотипические корреляции между морозостойкостью и длиной конуса нарастания у изученных линий. Так, зависимость между данными показателями у линий сорта Эритроспермум 604 по состоянию на 30.I.02 и 3.II.02 приближа-

лась к функциональной ($r = -1,00$ зимой и $r = -0,99$ весной). Коэффициенты корреляции длины конуса нарастания по состоянию на указанные даты взятия проб с устойчивостью проростков к промораживанию были равны $-0,94$ и $-0,90$ соответственно. Связь между данными показателями у линий сорта Мироновская 808 также была высокой. Коэффициент корреляции r равен $-0,92$ зимой и $-0,78$ весной. А коэффициент корреляции длины конуса с морозостойкостью проростков был более высоким и составлял $-0,97$ и $-1,00$ соответственно.

Различия почти изогенных линий по продолжительности II и III этапов органогенеза практически не влияли на формирование количественных параметров элементов структуры урожая, за исключением массы 1000 зерен (МТЗ) (табл.4). МТЗ моногенно доминантных линий Эритроспермум 604-*Vrd1* и Эритроспермум 604-*Vrd2* была больше на 2 и 4 г соответственно по сравнению с рекуррентным родителем. Доминантный аллель гена *Vrd2* в генотипе сорта Мироновская 808 также способствовал формированию более тяжеловесного зерна по сравнению с рекуррентным родителем, а гена *Vrd1* - более щуплого.

По остальным изученным признакам отмечали тенденцию увеличения количества зерен главного колоса (КЗГК) и их массы (МЗГК), количества зерен растения (КЗР) и их массы (МЗР) у линий носителей генов *Vrd1* или *Vrd2* сорта Мироновская 808. Параллельно с ростом количественных характеристик указанных признаков линии Мироновская 808-*Vrd1* и Мироновская 808-*Vrd2* характеризовались снижением количества продуктивных стеблей (КПС) и урожая

зерна (УЗ). При этом наибольший как негативный, так и позитивный эффект, за исключением признаков длина главного колоса (ДГК) и количества колосков главного колоса (ККГК), был выявлен у гена *Vrd2*. В генотипе сорта Эритроспермум 604, как правило, доминантные аллели обоих генов, особенно *Vrd2*, способствовали снижению изучаемых показателей по сравнению с исходным сортом. По признакам ДГК, ККГК, КПС и УЗ отмечали тенденцию к увеличению у линии Эритроспермум 604-*Vrd1*.

Выводы

Гены *Vrd* контролируют различия по продолжительности II этапа органогенеза, и как последствие, и III этапа. Наибольшее сокращение II этапа органогенеза характерно для линий носителей гена *Vrd1*. Эффект гена *Vrd2* существенно меньше. Указанные различия обуславливают достоверные различия почти изогенных линий по морозостойкости, продолжительности периода до колошения и практически не влияют на темпы прироста конуса нарастания и количественные характеристики элементов структуры урожая. Наличие средней чувствительности к фотопериоду у сорта Эритроспермум 604 способствует увеличению эффектов генов *Vrd* по сокращению II этапа органогенеза и периода до колошения и приводит к более контрастным различиям почти изогенных линий по данным показателям по сравнению с сортом Миrowsкая 808, для которого характерна сильная реакция на фотопериод.

Список литературы

1. Долгушин Д. А. Мировая коллекция пшениц на фоне яровизации. - М., 1935. - 110 с.

2. Gotoh T. Genetic studies on growth habit of some important wheat cultivars in Japan, with special reference to the identification of the spring genes involved // Japan J. Breed., - 1979. - Vol. 29, №2. - P. 133 - 145.
3. Файт В. И., Мартинюк В. Р. Фотопериодична чутливість та яровизаційна потреба сучасних сортів озимої м'якої пшениці селекції СГІ // Збірник наукових праць СГІ - НАЦ НА-ІС. - Одеса. - 2002. - №2. - С. 30-36.
4. Уразалиев Р. А. Абсаттарова А. С. Генетический контроль типа развития казахстанских сортов и образцов пшеницы из СУММИТ // Тезисы III съезда ВОГиС России "Генетика в XXI веке: современное состояние и перспективы развития". - М., 2004. - С. 137.
5. Saini A. D. Tandor J. P. Vernalization response of different component phases of flowering duration in wheat // Cereal Res. Commun. - 1989. - 17, №2. - P. 105-112.
6. Mahfoozi S., Limin A. E., Fowler D. B. Influence of vernalization and photoperiod responses on cold hardiness in winter cereals // Crop Sci. - 2001. - № 41. - P. 1006 - 1011.
7. Литвиненко М. А. Теоретичні основи та методи селекції озимої м'якої пшениці на підвищення адаптивного потенціалу для умов степу України // Автореф. дис. д-ра сільск. наук: 06.01.05 / Інститут землеробства. - Київ, 2001. - 46 с.
8. Файт В. И., Федорова В. Р., Нагуляк О. И., Прокопович К. Л., Попова Н. В. Связь фенотипических и генотипических различий по продолжительности яровизации и фотопериодической чувствительности с морозостойкостью озимой пшеницы // Збірник наукових праць Уманського державного аграрного університету (спеціальний випуск). - Умань, 2003. - С.359-364.
9. Стельмах А. Ф., Золотова Н. А. Генетические различия по продолжительности яровизационной потребности у озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. - 1993. - Т.27, №3. - С. 3-6.
10. Feit V. I., Stelmakh A. F. Congenic and isogenic lines on *Vrd* genes in winter bread wheat // International Conference "Genetic collections, isogenic and alloplasmic lines". - Novosibirsk, 2001. - P. 14-17.
11. Файт В.И. Создание почти изогенных и конгенных линий мягкой озимой пшеницы по генам контроля продолжительности

- яровизации - Vrd // Збірник наукових праць СГІ - НАЦ НАІС. - Одеса. - 2002. - №2. - С. 37-46.
12. *Стельмах А. Ф., Файт В. И., Мартынюк В.Р.* Различия генетических систем контроля фотореакции и яровизационной потребности у озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. - 2001. - Т.35, №3. - С. 3-9.
13. *Файт В. И., Стельмах А. Ф.* Ідентифікація Rpd генотипів деяких сортів озимої м'якої пшениці // Агроєкологія і біотехнологія. - 1998. - Вип. 2. - С.189-194.
14. *Файт В. И., Попова Н. В.* Продолжительность яровизации и фотопериодическая чувствительность почти изогенных по генам Vrd линий озимой мягкой пшеницы // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія: біологія. - 2003. - №5. - С.47-53.
15. *Полтарев Е. М.* Оценка растений озимых культур на зимо- и морозостойкость методом промораживания растений в пучках. // Методы определения морозо- и зимостойкости озимых культур. - М.:ВАСХНИЛ, 1969. - С. 16.
16. *Мусич В. Н., Нагуляк О. И.* Использование искусственного климата при селекции озимой пшеницы на морозостойкость // Системы интенсивного культивирования растений. - Л.:Агропромиздат. - 1987. - С.118-125.
17. *Куперман Ф. М.* Биология развития культурных растений. - М.:Высшая школа, 1982. - 343 с.
18. *Рокицкий П.Ф.* Биологическая статистика.- Минск: Вышэйшая школа, 1973.-320 с.
19. *Стельмах А.Ф., Мартинюк В.Р.* Вплив генів фотоперіодичної реакції на формування конуса наростання озимої пшениці в умовах осіннього посіву // Агроєкологія та біотехнологія. - 1998. - Випуск 2. - С.183-189.
20. *Куперман Ф. М., Туркова Е.В.* Рост конуса нарастання как морфофизиологический показатель зимостойкости сортов озимых культур // Вестник сельскохозяйственной науки. - 1980. - № 9 (288). - С. 56-60.
21. *Стельмах А. Ф., Мартынюк В. Р.* Эффекты доминантных генов Rpd по особенностям органогенеза у озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. - 1998. - 32, №6. - С. 27-34.

22. *Федорова В.Р., Файт В.И., Стельмах А.Ф.* Інтенсивність формування конуса наростання у ліній озимої пшениці з різними генами Rpd в певних умовах // Збірник наукових праць СГІ - НАЦ НАІС. - Одеса. - 2003. - Вип. 4 (44). - С. 3-9.
23. *Куперман Ф. М.* О некоторых особенностях формирования и роста конусов нарастання у озимой пшеницы Мироновская 808 в зимне-весенний период // Бюллетень МНИИ-СИС. - 1974. - Вип. 5. - С. 30-36.

Представлено В. А. Кунахом
Надійшла 01.10.2005 р.

ОСОБЛИВОСТІ ОРГАНОГЕНЕЗУ, МОРОЗОСТІЙКІСТЬ ТА УРОЖАЙНІСТЬ РІЗНИХ ЗА ГЕНАМИ Vrd ЛІНІЙ ОЗИМОЇ М'ЯКОЇ ПШЕНИЦІ

В. І. Файт, Н. В. Сухоносенко

Селекційно-генетичний інститут,
Національний центр насіннезнавства та сортовивчення УААН,
65036, Україна, Одеса, Овідіопольська дорога, 3
E-mail: fayt@paco.net

Виявлено скорочення тривалості II етапу органогенезу та періоду до колосіння, зниження морозостійкості у моногенно домінуючих за генами Vrd1 або Vrd2 ліній сортів озимої м'якої пшениці Миронівська 808 та Еритроспермум 604. Більший ефект за вказаними ознаками притаманний лініям - носіям гену Vrd1, менший - Vrd2. Гени Vrd1 і Vrd2 практично не розрізнялися за темпами росту конусу наростання та кількісних характеристик елементів структури урожаю, за виключенням маси 1000 насінин. На величину ефектів генів Vrd1 і Vrd2 впливає фотоперіодична чутливість генотипу рекурентного батька.

Ключові слова: тривалість яровизації, Vrd гени, етапи органогенезу, ізогенні лінії.

THE ORGANOGENESIS PECULIARITIES, FROST RESISTANCE AND PRODUCTIVITY OF THE WINTER BREAD WHEAT LINES DIFFERENT FOR VRD GENES

V. I. Fayt, N. V. Sukhosenko

Plant Breeding & Genetics Institute,
National Center of seed and cultivar investigation,
65036, Ukraine, Ovidiopol'skaya road 3, Odessa
E-mail: fayt@paco.net

Duration of the 2nd stage of organogenesis and period up to heading reduction, decrease of frost resistance have been shown for the near isogenic monogene dominant for *Vrd1* or *Vrd2* gene Mironovskya 808 and Eritrospermum 604 winter bread wheat cultivars lines. Digger effect

on the characters was noted for *Vrd1* gene, smaller - for *Vrd2*. *Vrd1* and *Vrd2* genes had practically no influence on the growing conus length differences and productivity element quantitative characteristics, except of 1000 kernels weight. Photoperiodical sensibility of the recurrent parent genotype influenced *Vrd1* and *Vrd2* gene effect value.

Key words: vernalization duration, *Vrd* genes, organogenesis stage, isogenic lines.

УДК: 575.113. 575 224

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ГЕННОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЧЕРЕПНО- МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

В. В. БЕЛОШИЦКИЙ

Институт нейрохирургии им. акад. А. П. Ромоданова АМН Украины
04050, Киев, ул. Мануильского, 32, Институт нейрохирургии,
e-mail: vadim11@nbi.com.ua

Рассмотрены современные представления о патогенезе черепно-мозговой травмы, механизмы, определяющие развитие вторичных повреждений мозга и прогрессирование неврологического дефицита. Обсуждена возможность лечебного эффекта генной терапии при экспериментальной черепно-мозговой травме. Определены гены, продукты которых могут ограничить объем нейродегенерации и улучшить исходы травмы.

Ключевые слова: черепно-мозговая травма, генная терапия

Введение. В настоящее время общепринято, что патологические изменения при черепно-мозговой травме (ЧМТ) представляют собой "не отдельные события, а процессы, запущенные в движение механическим воздействием. Эти процессы не завершаются в сколько-нибудь обозримые сроки после травмы" [5]. Обусловленные ЧМТ первичные повреждения мозга, связанные, в основном, с эффектами возбуждающих аминокислот и ионов Ca^{2+} , развиваются в течение относительно непродолжительного времени. Это существенно ограничивает в настоящее время возможности фармакологической коррекции. Первичные повреждения сменяются процессом, который получил название "отсроченной клеточной смерти" (delayed cell death). Показано, что этот процесс развивается в течение длительного времени (дни, недели, месяцы после травмы), охватывает как зону травматической "пенумбры" (перифокальной зоны "полутени", клетки которой в течение определенного времени сохраняют жизнеспособность и могут в последующем как погибнуть, так и выжить), так и регионы мозга, удаленные от очагов первичного повреждения. При этом количество нервных клеток, погибающих в результате вторичных повреждений, может значительно превышать таковое в результате первичной травмы. Вклад "отсроченной клеточной смерти" в развитие неврологического дефи-

цита представляется весьма существенным. Вместе с тем, продолжительное течение вторичной гибели нервных клеток определяет существование так называемого "терапевтического окна", позволяющего проводить терапевтические мероприятия, способствующие обеспечению нейропротекции.

Повреждение нейронов может иметь одно из трех следствий: клеточную смерть, стойкую атрофию нейронов или восстановление. Каскад внутриклеточных изменений, приводящих к "отсроченной клеточной смерти", представляет собой чрезвычайно сложный процесс и исход его определяется экспрессией многих генов и сложным взаимодействием их продуктов. Приводит ли такое взаимодействие к стойким структурным нарушениям или восстановлению, определяется балансом между процессами, которые, с одной стороны, осуществляют эффекты первичной травмы и последующих вторичных повреждений, а, с другой стороны, являются проявлением регенеративно - репаративных процессов в мозге. В настоящей работе обобщена информация о перспективах нейропротекции при ЧМТ применительно к возможностям генной терапии - метода, позволяющего индуцировать в нервных клетках поврежденного мозга синтез тех или иных белков с потенциальным терапевтическим эффектом.

В большинстве из немногочисленных экспериментальных работ по генной терапии при ЧМТ изучалась терапевтическая эффективность генов, кодирующих нейротрофины. Нейротрофины, относящиеся к факторам роста, играют важную роль в

развитии ЦНС. Отголоском структурной пластичности, наблюдающейся при развитии ЦНС, может быть ответ взрослого головного мозга на травму. Способность зрелых нейронов к восстановлению может определяться механизмами, влияющими на нейрональный фенотип во время развития ЦНС и включающими экспрессию генов, кодирующих факторы роста, а также реакцию на сигналы клеточного окружения. Такие сигналы представляют собой нейротрофины и молекулы-субстраты, стимулирующие рост нейритов. Способность реагировать на нейротрофические факторы демонстрируют несколько отделов взрослой ЦНС. базальные отделы переднего мозга, обонятельная кора, гиппокамп, таламус, ствол мозга и спинной мозг. Экспрессия генов, кодирующих синтез факторов роста, отмечается уже в первые часы после повреждения.

Имеется достаточное число доказательств, что назначение нейротрофинов крысам с экспериментальной ЧМТ способствует частичному морфологическому и функциональному восстановлению, защищая нейроны от смерти или дегенерации, обеспечивая уменьшение дефицита познавательной деятельности, регресс нарушений поведенческих реакций и памяти.

Вопрос, эффективна ли индукция синтеза нейротрофинов в поврежденной центральной нервной системе, изучался на моделях ЧМТ и экспериментальной аксотомии (пересечении лицевого, зрительного нервов или спинальных корешков). Клетки травмированной ЦНС подвергались трансфекции генами фактора роста нервов (NGF), фактора роста фиброб-

ластов (FGF), нейротрофина-3 (NF-3), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) и glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF). Использовались аденовирусные векторы, а также плазмидные векторы, проникновение которых в клетки обеспечивалось при помощи катионных липосом. Было показано, что с помощью генной терапии можно не только уменьшать гибель нейронов, но и добиваться улучшения функциональных исходов травмы.

Интересным подходом к лечению экспериментальной ЧМТ является продемонстрированная возможность коррекции посттравматических нарушений мозгового кровообращения с помощью генной терапии. Крысам с экспериментальной травмой мозга интратекально (в ликворную систему) вводился рекомбинантный аденовирусный вектор, кодирующий человеческий фермент антиоксидантной защиты Cu,Zn-супероксиддисмутаза. Это предотвращало развитие нарушений ауторегуляции мозгового кровотока, обусловленных эффектами супероксид-аниона - продукта повышенной активности НАДН-оксидазы в стенке мозговых сосудов после ЧМТ. Тот факт, что действие ферментов антиоксидантной защиты направлено на события цитотоксического каскада, имеющие место в первые часы после травмы, например, эффекты Ca^{2+} , потребовал, по-видимому, необходимости предварительного лечения (pretreatment) до нанесения травмы в этой работе [2].

Многообещающими представляются экспериментальные работы, касающиеся перспектив генной терапии *ex vivo* при ЧМТ. Данный метод предполагает трансплантацию гене-

тически модифицированных клеток, что представляет собой комбинацию двух различных подходов. Во-первых, нейротрансплантации с целью замещения клеток, погибших в результате травмы. Во-вторых, генной терапии, которой подвергаются пересаживаемые клетки непосредственно перед имплантацией в травмированную ЦНС. В ранних работах использовались дифференцированные клетки (фибробласты), в последующем - невральные стволовые клетки (СК) и невральные клетки-предшественники. Важной основой для использования СК в качестве вектора является их способность к миграции, в том числе к месту повреждения, после их трансплантации в головной мозг. Другим важным свойством СК является их способность реагировать на сигналы микроокружения и, в зависимости от этих сигналов, дифференцироваться в зрелые нейроны, астроциты и олигодендроциты. Указанные клетки генетически трансформировались (при помощи ретровирусного вектора) с целью индукции синтеза ими нейротрофинов, в частности NGF и BDNF. Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что генная терапия *ex vivo* заметно повышает выживаемость нейронов базальных отделов переднего мозга и гиппокампа при экспериментальной ЧМТ, обеспечивая при этом регресс двигательных дисфункций и когнитивных расстройств, в частности нарушений памяти. Таким образом, перенос нейротрофических факторов клонами СК в ткани зрелого мозга, встраивание клонов в существующую citoархитектонику мозга и продолжительная экспрессия этих факторов в поврежденных структурах головного мозга

сулят большие надежды на положительный эффект в лечении ЧМТ.

В настоящее время в Институте нейрохирургии АМН Украины проводится экспериментальная оценка терапевтического эффекта аполипопротеина Е (apoE) при экспериментальной ЧМТ. ApoE - гликопротеин плазмы, который играет ключевую роль в метаболизме, транспорте и регуляции уровня холестерина и триглицеридов. При ЧМТ экспрессия гена ApoE усиливается и, соответственно, синтез соответствующего белка в нервных клетках значительно увеличивается, коррелируя с выраженностью повреждений и динамикой регенерации нервной ткани. Считается, что синтез apoE имеет важнейшее значение для репарации липидного компонента мембран глии и нейронов, обеспечивая транспорт холестерина и фосфолипидов в ранней и промежуточной фазах процесса реиннервации. Исследования, выполненные на ApoE-дефицитных мышах (ApoE-knockout mice), показали, что ЧМТ у таких животных характеризуется более грубыми структурными нарушениями и худшими функциональными исходами. У человека существуют три изоформы белка apoE - ε2, ε3 и ε4. Носительство ε4-аллеля гена ApoE сопровождается дисфункцией липид - транспортных систем, что, в случае травматического повреждения, связано с худшими ростом нейритов и ремоделированием синапсов в процессе реиннервации. Такое носительство коррелирует с наличием более массивных структурных проявлений ЧМТ, худшими исходами и отдаленными последствиями травмы.

В нашем исследовании, в боковой желудочек мозга крыс с ЧМТ осу-

ществлялась инфузия катионных липосом, содержащих плазмидный вектор pCMV-SPORT6, в который под контроль цитомегаловирусного промотора встраивалась кДНК генов ApoE ε2 или ApoE ε3. Для приготовления липосом использовались препараты LipofectAMINE или DOTAP. Эффективность трансфекции подтверждалась с помощью метода RT-PCR. Для оценки терапевтической эффективности трансфера генов ApoE ε2 и ε3 использовались гистологическое изучение структурных проявлений травмы и комплексная оценка двигательных функций, удержания равновесия и некоторых поведенческих реакций животных. Результаты исследования показывают, что генная терапия, направленная на индукцию синтеза изоформ аполипопротеина E человека в головном мозге крыс с экспериментальной ЧМТ, способна оказывать положительный лечебный эффект, который проявляется в повышении выживаемости пирамидальных нейронов гиппокампа, коррекции посттравматической двигательной дисфункции, предупреждении выраженных расстройств долговременной и рабочей (краткосрочной) памяти.

В основе еще нескольких возможных подходов к применению генной терапии при ЧМТ лежат работы последних лет, давшие представление о биохимическом каскаде программируемой клеточной смерти (ПКС) и апоптозе, морфологическом проявлении ПКС, определяющих отсроченные повреждения мозга. ПКС строго регулируется экспрессией или активацией нескольких генов или белков. Общепринято, что сдвиг в балансе между про- и антиапоптозными белковыми факторами в сторону экспре-

ссии соединений, индуцирующих клеточную смерть, лежит в основе механизма апоптоза. На наш взгляд существует необходимость изучения в эксперименте методик генной терапии, направленных на торможение процесса ПКС и ограничение объема вторичных повреждений при ЧМТ. В качестве терапевтических агентов при этом могут рассматриваться гены, кодирующие аминокислотную последовательность различных ингибиторов апоптоза, имеющих полипептидную природу, например белка bcl-2 или ингибиторов ПКС - членов семейства IAPs, таких как cIAP-1, cIAP-2, ингибитор апоптоза, связанный с X-хромосомой (XIAP), или протеин, ингибирующий нейрональный апоптоз (NAIP). Другим подходом, нуждающимся в экспериментальной оценке, может быть блокирование трансляции проапоптотических факторов с помощью антисмысловых нуклеотидов. Гипотетически, лечебным эффектом может обладать торможение синтеза каспазы-3 - основного эффектора апоптоза при ЧМТ. Единственная работа, проведенная в этом направлении, продемонстрировала торможение апоптоза нейронов и улучшение исходов экспериментальной ЧМТ путем угнетения экспрессии белка p53, используя методику применения антисмысловых нуклеотидов [6].

Поскольку применение генной терапии в лечении поражений ЦНС связано с рядом препятствий, таких как постмитотическое состояние нервных клеток и изоляция их гематоэнцефалическим барьером (ГЭБ), важным вопросом является создание оптимальных векторов и методов доставки их в головной мозг. Преимущества и недостатки существующих

векторных систем и путей их доставки в ЦНС (трансваскулярного, интрапаренхиматозного и интратекального) подробно изложены в нескольких литературных обзорах [2,4,8,9].

Таким образом, понимание молекулярных механизмов репарации нервной ткани при травме, определение роли нейротрофинов в репарации, роли стволовых нервных клеток в замещении погибших нейронов взрослой ЦНС, исследование естественной регуляции этих процессов и возможностей влияния на нее могут привести к предложению новых методов терапии, эффективность которой очень часто остается недостаточно высокой. Все вышеуказанное делает особо актуальным изучение возможностей генной терапии при ЧМТ с целью улучшения исходов травмы и снижения уровня летальности у потерпевших.

Список литературы

1. Педаченко Е.Г., Белошицкий В.В., Васильева И.Г. Аполипопротеин E: физиологическая роль и возможная терапевтическая эффективность при черепно-мозговой травме// *Нейрохирургия*. - 2003. - №1. - С.59-65.
2. Педаченко Е.Г., Белошицкий В.В., Гридина Н.Я. Генная терапия при черепно-мозговой травме: экспериментальные данные и клинические перспективы// *Клиническое руководство по черепно-мозговой травме*. Т.3. - М.: Антидор. - 2002. - С.600-610.
3. Kim C.D., Shin H.K., Lee H.S. et al. Gene transfer of Cu/Zn SOD to cerebral vessels prevents FPI-induced CBF autoregulatory dysfunction// *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* - 2002. - V.282, №5. - P.1836-1842.
4. Pedatchenko E, Beloshitskiy V, Gridina N: Gene therapy in brain injury: problems and perspectives, in Potapov A, Likhтерman L, von Wild KRH (ed): *Neurotrauma. Epidemiology, prevention, new technologies, gul-*

- delines, pathophysiology, surgery, neurorehabilitation. Moscow, The N.N. Burdenko Neurosurgery Institute - 2002 - pp 171-185.
5. *Sahuquillo J., Poca M.A., Amoros S.* Current aspects of pathophysiology and cell dysfunction after severe head injury// *Curr. Pharm. Des.* - 2001. - V.7, №15. - P.1475-1503.
 6. *Xue L., Yang S.Y.* The protective effect of p53 antisense oligonucleotide against neuron apoptosis secondary to traumatic brain injury// *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* - 2004. - V.42, №4. - P.236-239.
 7. *Yang K., Zou L., Hayes R., Yuan X., Zhou H.* Gene therapy strategy for the treatment of TBI// *Restor. Neurol. Neurosci.*-2000.-V.16, №3,4. - P.254.
 8. *Yang K., Clifton G.L., Hayes R.* Gene therapy for central nervous system injury: the use of cationic liposomes: an invited review// *J Neurotrauma.* - 1997. - V.14, №5. - P.281-297.
 9. *Zlocovic B.V, Apuzzo M.L.J.* Cellular and molecular neurosurgery: Pathways from concept to reality-Part 1: target disorders and concept approaches to gene therapy of central nervous system// *Neurosurgery.*- 1997.-V 40, №4. - P.789-803.
 10. *Zou L.L., Huang L., Hayes R L. et al.* Liposome-mediated NGF gene transfection following neuronal injury: potential therapeutic applications// *Gene Ther.*-1999.-V.6. - P.994-1005.

*Представлено Л. Л. Лукаш
Надійшла 21.02.2004 р.*

ОСНОВНІ НАПРЯМКИ ЗАСТОСУВАННЯ ГЕННОЇ ТЕРАПІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ

В.В. Білошицкий

Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова АМН України
Україна, 04050, Київ, вул. Мануїльського,32
e-mail: vadim11@nbi.com.ua

Розглянуто сучасні уявлення про патогенез черепно-мозкової травми, механізми, що визначають розвиток вторинних ушкоджень мозку і прогресування неврологічного дефіциту. Обговорено можливість лікувального ефекту генної терапії при черепно-мозковій травмі. Визначено гени, продукти яких можуть обмежити обсяги нейродегенерації і поліпшити наслідки травми.

Ключові слова: черепно-мозкова травма, генна терапія

BASIC TRENDS OF GENE THERAPY USE FOR EXPERIMENTAL TRAUMATIC BRAIN INJURY

V.V. Biloshytsky

Institute of Neurosurgery AMS of Ukraine
32, Manuilsky st., 04050, Kyiv, Ukraine
e-mail: vadim11@nbi.com.ua

The current knowledge of traumatic brain injury pathogenesis and mechanisms that cause the development of secondary brain damage and progression of neurological deficits are reviewed. The probability of gene therapy efficacy for traumatic brain injury is discussed. The genes which products may limit the volume of neurodegeneration and improve the outcome of injury are defined.

Key words: traumatic brain injury, gene therapy.

УДК 633.31:631.52:528

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ЗМІНИ В СИСТЕМІ РОЗМНОЖЕННЯ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ ВІД АЛОГАМІЇ ДО АВТОГАМІЇ

Н. В. БАШКІРОВА, Т. В. НОВАК
Національний аграрний університет
03041, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 13,
e-mail: plantprot_dean@tnoin.nauu.kiev.ua

Показана можливість змін в системі розмноження люцерни посівної від алогамії до автогамії. Запропоновано використання мутантних Sf-алелей люцерни для підвищення її насінневої продуктивності. Одержані калюсні культури інбредних ліній люцерни з різним морфогенетичним потенціалом для подальшого використання в практичній селекції.

Ключові слова: люцерна, самозапилення, Sf-алелі, калюс, морфогенез

Вступ. Люцерна посівна є цінною кормовою багаторічною культурою, розширення площ посіву якої в північних районах України та інших країн стримується низькою насінневою продуктивністю сучасних сортів в умовах недостатнього перехресного запилення через відсутність комах-запилювачів. Еволюція геномів диких однорічних видів відбувалась в напрямку змін в локусах генів несумісності і переходу від аллогамного до автогамного способу розмноження. Аналогічні процеси відбуваються і в популяціях багаторічної люцерни посівної, в якій добір форм з підвищеною насінневою продуктивністю приводить до добору форм, здатних до самозапилення. Для розширення спектра мінливості ознак, які необхідно об'єднати в одному генотипі, крім застосування примусового штучного послідовного інбридингу нами пропонується використання соматоклональної мінливості рослин 8-9 інбредних поколінь.

Матеріали та методи

Використовували рослини інбредних ліній люцерни посівної 8-9 поколінь, одержаних нами.

При проведенні самозапилення квіток використовували квітки в стадії "прямого вітрила", всі бутони, старі квітки видаляли із суцвіття. Для розкриття човника квітки використовували металеві очні анатомічні

пінцети, ніжками яких охоплювали квітку ззовні і, злегка здавлюючи, вивільняли тичинково-маточкову колонку. Підраховували кількість самозапиленних квіток. Суцвіття вміщували під марлевий ізолятор, на етикетці вказували вид операції, кількість квіток, дату та номер рослини. Визначали кількість бобів, які зав'язались при самозапиленні 100 квіток, та число насінин в бобі.

У розсаднику самозапильних ліній рослини розміщували квадратно-гніздовим способом (0,45 x 0,45 м), масу насіння визначали зважуванням на вагах ВЛКТ-500.

Процеси калюсогенезу та морфогенетичний потенціал досліджували за загальноприйнятими методиками роботи з культурою клітин. Експлантами слугували сегменти листового черешка. Рослинний матеріал люцерни культивували на середовищах Гамборга, Лінсмайер і Скуга, Мурасіге і Скуга. Кожні 3-4 тижні під час субкультування калюсу аналізували його ступінь розвитку та кількість морфогенних калюсів. Добре сформованим та з належним морфогенетичним потенціалом вважали калюс природного зеленого або блідо-зеленого кольору, з зачатками коренів, пагонів [1,2].

Результати та обговорення

Проблеми насінневої продуктивності люцерни посівної в сучасних умовах в першу чергу пов'язані з еволюційними змінами морфологічної будови квіток, які були направлені на запилення тільки певними видами комах. Квітка люцерни має човник закритого типу і обов'язковою умовою запилення є його розкриття та вивільнення тичинково-маточкової колонки. Цей процес є однократним і доопи-

лення приймочки маточки є неможливим. Розширення ареалу розповсюдження видів люцерни в північні райони земної кулі привело до еволюції більше 40 однорічних диких видів від перехресного до самозапилення [3]. Недостатня кількість ефективних запилювачів люцерни (які є мешканцями південних районів) на межі ареалу розповсюдження культури привела до зниження рівня перехресного запилення до 13-16%. У цих умовах підвищену насінневу продуктивність мають мутантні по генах несумісності рослини, здатні до самозапилення. Але переведення перехреснозапильного виду до автогамії вимагає об'єднання багатьох ознак: високого рівня самосумісності, саморозкриття квіток або їх самозапилення в бутоні, відсутності негативного впливу інбридингу на продуктивність рослин [4]. Нашими попередніми дослідженнями вдалося досягти об'єднання часткової автогамії (45-55%) та підвищеної продуктивності інбредних ліній (зниження урожайності по відношенню до вихідних форм не перевищувало 10%) [5]. Ці дослідження дозволили створити три перших вітчизняних сорти люцерни з частковою автогамією - Ярославна, Роксолана, Ольга. Дослідження в цьому ж напрямку проводять селекціонери Полтавської дослідної станції, які створили сорт Віра [6], та Росії - сорт-синтетик Камелія, одним із компонентів якого є Ярославна [7].

Використовуючи мутантні форми з Sf-алелями ми одержали інбредні лінії 8-9 поколінь, які різнились як за урожайністю насіння, так і за показниками рівня фертильності. Деякі результати представлені в таблиці 1.

24 з 43 досліджуваних ліній мали рівень самосумісності 10-20%, вісім

Таблиця 1. Показники самофертильності та насінневої продуктивності рослин інбредних ліній

Номер лінії	Рівень самосумісності		Маса насіння (г/рослини)	Кількість рослин (шт.)
	Бобів/100 квіток (шт.)	Насінин в бобі (шт.)		
Ярославна (стандарт)	39,4 ± 0,6	2,10 ± 0,16	14,2 ± 2,3	20
156	46,0 ± 0,7	2,22 ± 0,27	14,4 ± 1,8	14
158	30,0 ± 0,6	1,37 ± 0,19	11,3 ± 1,9	12
166	38,9 ± 0,4	2,40 ± 0,31	14,2 ± 1,8	11
167	42,3 ± 0,7	1,48 ± 0,21	19,6 ± 2,0	10
181	39,3 ± 0,4	2,20 ± 0,61	11,4 ± 1,9	14
183	49,7 ± 0,5	2,30 ± 0,41	10,5 ± 1,9	10
187	41,0 ± 0,5	1,81 ± 0,21	8,7 ± 1,7	11
189	41,7 ± 0,6	1,69 ± 0,19	11,7 ± 2,2	13
83	12,0 ± 0,7	0,61 ± 0,21	6,3 ± 1,1	10

ліній були високосамосумісними, що підтверджує дані інших дослідників про недосяжність константності інбредних ліній за показниками самосумісності в 8-9 поколіннях тетраплоїдної люцерни посівної. Результати вивчення урожайності насіння кращих ліній свідчать про можливість одержання форм, які не поступаються за цим показником сорту Ярославна.

Наші 20-річні дослідження мутантних за *Sf*-алелями форм люцерни не дозволили об'єднати в одному генотипі гени, що контролюють повну самосумісність, високу продуктивність насіння і кормової маси, самозапилення в закритому бутоні або автотрипінг при звичайних умовах, хоча деякі високосамосумісні форми і мали зміни в будові замкового механізму квітки, що визначало досить легке розкриття квіток при дії високих температур повітря (28°C і вище).

З літературних джерел відомо, що у деяких видів за рахунок соматоклональної мінливості вдалось одержати нові рекомбінантні форми [8-10]. Наприклад, у кукурудзи з техаським типом цитоплазматичної чоловічої стерильності одержали форми, стійкі до гельмінтоспоріозу, чого не могли досягти селекційними методами. Також ми знали про сортоспецифічність здатності люцерни посівної до калюсогенезу, але сподівались, що генотипи самосумісних інбредних ліній не будуть перешкоджати цьому процесу.

Встановлено, що за умов культивування листових експлантів кращим є модифіковане середовище Гамборга з додаванням 2,4 Д, яке визначає інтенсивність калюсогенезу та ініціює закладання морфогенетичних структур (бруньок, коренів, ембріодів), а також з додаванням кінетину (КІН), НОК, БАП. Взаємодія КІН та НОК з 2,4

Д підвищує ефективність калюсо- та морфогенезу, а БАП сприяє утворенню ембріодів.

Після одно-двотижневого культивування експланти втрачали інтенсивний зелений колір внаслідок деструкції хлоропластів та втрати фотосинтетичної активності, що співпадає із даними інших дослідників [11]. Диференціювання експлантів здійснювалось з різною інтенсивністю, приріст калюсної маси та його морфологічні властивості також залежали від генотипових особливостей рослини - донора. Культивування калюсів різних генотипів люцерни характеризувалось відмінностями в морфогенезі, ембріодогенезі. Відібрані такі лінії люцерни, експланти з яких, за умов культивування *in vitro* не проявили

алелей призводить до підвищення насінневої продуктивності таких форм.

2. Наявність видів однорічної люцерни, які перейшли від аллогамії до автогамії свідчить про можливість цього напрямку еволюції і люцерни посівної, особливо на межі її ареалу розповсюдження в Європі (північні райони України).

3. Методом штучного самозапилення на протязі 9 поколінь не вдалося досягти поєднання ознак повної самосумісності, автотрипінгу та високої продуктивності в одному генотипі.

4. Отримано калюсні культури люцерни з використанням інбредних ліній та модифікованого середовища Гамбурга з метою подальшого одержання соматоклональних варіантів з цінними селекційними ознаками.

Таблиця 2. Частота калюсоутворення та регенерації рослин в залежності від складу середовища

Варіант середовища	Кількість висаджених експлантів, шт.	Калюсоутворення (через 14 днів)		Регенерація рослин	
		штук	%	штук	%
B ₅ + 2.4 Д	30	17	55,3	13	43,4
B ₅ + НОК + 2.4 Д	23	11	47,8	12	52,2
B ₅ + БАП	26	9	32,7	18	67,3

регенераційної здатності, а також такі, які інтенсивно утворювали і пагони, і корені (табл. 2).

Таким чином ми вважаємо можливим використання потенціалу генотипів вихідних ліній люцерни для використання в практичній селекційній роботі.

Висновки

1. В умовах недостатньої кількості комах-запилювачів накопичення в генотипі люцерни посівної мутантних *Sf*-

Перелік літератури

1. Сидоров В.А. Биотехнология растений. Клеточная селекция. - К.: Наук. думка, 1990. - 280 с.
2. Кунах В.А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. Каллусообразование *in vitro* // Биополимеры и клетка. - 1997. - В, № 5. - С. 362 - 371 с.
3. Нейт С.С. The annual species of Medicago. - Jerusalem, Magnes press. - 1963. - 154 p.
4. Gumaniuc L., Varga P. Depresiunea de consangvinizare si heterozisul la lucerna. / Probl. gen. teor. si apl. - 1985, v. 17, №3. - p. 143-152
5. Бобер А.Ф. Башкирова Н.В., Сарнацкий К.П. О создании автогамных сортов лю-

- церны с высокой семенной продуктивностью / Мат. 5 съезда УОГИС.- Киев.- 1986.-С.-16-18
6. Дробец П.Т., Дробец С.П. Люцерна Вира. / Сел. и семен. - 1995, №1.- С. 31-32.
7. Лукьянец В.П. Сорт люцерны Камелия Селекция и семеноводство.-1995.-№3.- С.25-26
8. Поляков А В. Усовершенствование селекционного процесса льна-долгунца на основе использования биотехнологических методов: Автореф. дис. д-ра биол. наук - М., 1998. - 50 с.
9. Мельничук М.Д., Новак Т.В., Кунах В.А. Биотехнология растений. - К., Поліграф Консалтинг, 2003. - 516 с.
10. Сорока А.И. Влияние состава среды на процессы каллусогенеза и регенерации в культуре пыльников льна Цитология и генетика. - 2004. - № 2. - С. 20-25.
11. Мезенцев А В. Методические указания по регенерации и размножению люцерны с использованием культуры тканей, клеток и протопластов -М -1990.-25 с

Представлено В. А. Кунахом
Надійшла 01.10.2005 р.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ РАЗМНОЖЕНИЯ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ ОТ АЛЛОГАМИИ ДО АВТОГАМИИ

Н. В. Башкирова, Т. В. Новак

Национальный аграрный университет
03141, г. Киев, ул. Героев Оборона 13,
e-mail: plantprot_dean@tnoin.nauu.kiev.ua

Показана возможность изменений в системе размножения люцерны посевной от аллогамии до автогамии. Предложено использование мутантных *Sf*-аллелей люцерны для повышения ее семенной продуктивности. Получены каллусные культуры инбредных линий люцерны с различным морфогенетическим потенциалом для дальнейшего использования в практической селекции.
Ключевые слова: люцерна, самоопыление, *Sf*-аллели, каллус, морфогенез.

THE EXPERIMENTAL CHANGING IN ALFALFA REPRODUCTION SYSTEMS FROM ALLOGAMY TO AUTOGAMY

N V. Bashkirova, T.V. Novak

The National University of Agriculture
03041, Kyiv st Geroiv Oboroni, 13,
e mail. plantprot_dean@tnoin.nauu.kiev.ua

The possibility of the modification the alfalfa reproduction systems from allogamy to autogamy is researched. the usage of mutable *Sf*-alleles of alfalfa for increasing of its seed productivity is demonstrated. The "calus" crops of different inbred lines of alfalfa with various morphogenetical potential are obtained for the further utilization in practical breeding.

Key words: alfalfa, self-fertilisation, *Sf*-alleles, calus, morphogenesis.

УДК 57 5.224

ГЕНЕТИЧНІ ЕФЕКТИ ПОВЕРХНЕВИХ І ПІДЗЕМНИХ ВОД ЛЬВІВЩИНИ ТА КОРЕКЦІЯ МУТАГЕННИХ ФОНІВ ПРИРОДНИМИ АБО СИНТЕТИЧНИМИ СОРБЕНТАМИ

А. В. ФЕДИНЯК, Л. С. БОДНАР, О. М. ДУГАН¹, І. Р. БАРИЛЯК¹
Львівський національний університет імені Івана Франка,
79000, Львів, вул. Університетська, 1

¹ Інститут гігієни та медичної екології імені О.М. Марзеева АМН України,
Київ, вул. Попудренка, 51

Вперше проведено скринінг на мутагенну активність водних басейнів Львівщини. Виявлено, що значний внесок в мутагенне навантаження поверхневих водойм належить стічним водам з підприємств різних галузей виробництва. Показано, що очисні споруди не забезпечують повної нейтралізації стічних вод від генотоксичних агентів. Також при дослідженні води з 9 артезіанських джерел у 2 випадках нами зафіксовано індукцію генних мутацій. Після проходження води з підземних джерел через системи знезараження шляхом хлорування виявлене збільшення мутагенних фонів. Вперше для корекції мутагенних фонів побічних продуктів хлорування води нами застосовані деякі природні та синтетичні сорбенти. Найефективніше зменшення мутагенної активності отримали при експозиції з цеолітами. Показана вибіркова дія глауконітолітів. Неефективним виявився трепел.

Ключові слова: генотоксичні ефекти, мутагенність, стічні води, питна вода, природні сорбенти

Вступ. Організм людини в умовах довкілля піддається впливу цілого комплексу чинників фізичної, хімічної та біологічної природи як природного, так і антропогенного походження. Комбінована та комплексна дія цих факторів на спадковий апарат людини вивчена недостатньо. Не до кінця розроблені також методологічні та методичні підходи щодо вирішення цих проблем. Оскільки наявність у зовнішньому середовищі генотоксикантів і постійне розширення їх різноманіття безпосередньо веде до збільшення інтенсивності мутагенного тиску довкілля на людську популяцію, вивчення сумарного мутагенного впливу забруднювачів довкілля на функціонування спадкового апарату є особливо актуальним. Однак, проведення скринінгу тих чи інших чинників, або їх комплексу на здатність індукувати мутації і оцінка мутагенної активності є не достатнім на даному етапі. Необхідно шукати шляхи що-

до зменшення мутаційного тиску. Це можна здійснити впровадженням ряду антимуагенів, таких як вітаміни, продукти бджільництва, рослинні екстракти [1]. Майже не вивченими в плані зменшення мутагенних ефектів є природні та синтетичні сорбенти, за винятком хіба що активованого вугілля [2]. Разом з тим відомо, що завдяки своїм сорбційним властивостям природні сорбенти здатні поглинати та/чи зв'язувати радіонукліди, деякі пестициди, важкі метали [3,4,5].

Дана робота присвячена скринінгу на сумарну мутагенну активність поверхневих і підземних вод Львівщини при різному антропогенному навантаженні. Проведене дослідження мутагенної активності води в основному технологічному ланцюгу водопідготовки Львівського водопроводу, її залежності від способу дезинфекції. Проаналізовані і встановлені закономірності зменшення мутагенних рівнів питної води та хлорорганічних сполук при застосуванні різних природних та штучних сорбентів.

Матеріали і методи

Матеріалом для генотоксичних досліджень служили зразки води, відібрані з рік Тисмениця, Раточина, Західний Буг, Солокія, Сівка, зразки стічних вод з деяких підприємств нафтопереробної та хімічної промисловостей Львівщини, а також зразки шахтних вод Львівсько-Волинського вугільного басейну. Матеріалом для досліджень мутагенних фонів питної води служили зразки води, відібрані на різних етапах водопідготовки на Львівському водопроводі. Львів розташований на європейському вододілі басейнів Чорного і Балтійського морів, позбавлений близької наявності річок,

здатних забезпечити його водою. Споживання води можливе тільки з підземних джерел. Вода з артезіанських свердловин надходить на помпові станції. Знезараження води відбувається в хлораторних помпових станціях зрідженим хлором. Залежно від об'єму води та протяжності водогону в деяких випадках доводиться додатково хлорувати воду. Далі вода надходить у водорозподільну мережу.

Для оцінки ефективності застосування різних способів дезинфекції, які використовуються на території Західної України, досліджували питну воду з трьох областей: Закарпатської, Рівненської та Львівської. Зразки були надані працівниками відділу водопостачання Львівської залізниці. Джерелом водопостачання зразків з розвідної мережі ст. Чоп і Мостиська-2 є поверхневі водойми (р.Латориця та р.Вишня відповідно). Джерелом постачання води ст. Мукачеве, Брюховичі, Сарни, Дубровиця, Батево є підземні води. У випадку поверхневого водопостачання воду додатково очищають шляхом коагуляції та фільтрації. Для знезараження застосовують як рідкий хлор, так і хлорне вапно, а також ультрафіолет.

Досліджували мутагенну активність хлороформу (трихлорметан), чотирихлористого вуглецю (тетрахлорметан), 1,2-дихлоретану та трихлороцтової кислоти, які є типовими хлорорганічними забрудниками питної води. Готували розчини цих речовин у ДМСО в концентраціях рівних 1 ГДК (гранично допустима концентрація), 10 ГДК і 100 ГДК.

Досліджували можливість використання ряду сорбентів природного та синтетичного походження для зниження мутагенної активності побічних

продуктів хлорування, зокрема глауконіт, іоно-обмінні смоли, цеоліт, трепел та активоване вугілля. Для цього проводили експозицію розчинів хлорорганічних сполук з вказаними сорбентами. Кількість сорбентів становила 5% і 10% від маси зразка.

В роботі ми використовували такі тести: тест Еймса з використанням гістидинзалежних штамів *Salmonella typhimurium* TA-98 і TA-100, для фіксації генних мутацій [6], анателофазний аналіз меристемних клітин корінців *Allium* сера, для виявлення хромосомних аберацій [7], тест на домінуючі летальні мутації (ДЛМ) та тест на соматичні мутації і рекомбінації на *Drosophila melanogaster* [8], а також визначали мітотичну активність у меристемних клітинах *Allium* сера. Вони дали змогу одержати реальну картину

забруднення об'єктів довкілля та можливої загрози для здоров'я людей.

У випадку тесту Еймса попередньо концентрували зразки методом адсорбції на неіонному пористому сорбенті Полісорб-1. У всіх інших тестах використовували нативні зразки.

Результати та обговорення

Виявлене мутагенне забруднення стічних вод вугільної промисловості та їх вплив на природні водойми Львівської області (на прикладі Червоноградського гірничо-промислового району). Даний район характеризується великим техногенним навантаженням, оскільки на відносно невеликій площі розташовані 12 вугільних шахт та Червоноградська центральна збагачувальна фабрика. За даними "Захід-укргеології" територія Червоноградсь-

Таблиця 1. Аналіз мутагенності води з рік Львівської області та стічних вод з промислових підприємств на різних тест-системах

№ п/п	Зразок	Тест Еймса		Анателофазний аналіз	Мітотична активність	Метод-соматич. рекомбінацій	Метод ДЛМ
		ТА - 98	ТА - 100				
Вугільна промисловість:							
1.	шахти Львівсько-Волинського вугільного басейну	+	+	-	інгіб.	-	
2.	р. Західний Буг	+	+	+	інг,акт.	+	-
3.	р. Солокія	-	+	+		+	-
4.	притока р. Солокія	-	+			-	
Хімічна промисловість:							
5.	ВАТ "Сокальський завод хімволокна"			+	інгіб.		
6.	Бориславське ВТП "Галлак"	+	+	+			-
7.	ВАТ "Оріана", м. Калуш	+	+	+			
8.	р. Сівка	-	-	+			
Нафтопереробна промисловість:							
9.	АТ НПК "Галичина"	+	+	+	інгіб.	-	+
10.	р. Тисмениця	+	+	+	інгіб.	-	
11.	р. Раточина	+	+				

Примітки: "+" - наявність мутагенного ефекту;
 "-" - відсутність мутагенного ефекту.

кого району забруднена важкими металами та елементами I та II класу небезпеки (миш'яком, ртуттю, кадмієм, стронцієм, фосфором, кобальтом тощо), в концентраціях, що значно перевищують ГДК [9]. Виявлено, що зразки шахтних вод викликають індукцію генних мутацій у тестерних штамів *S. typhimurium*, і негативно впливають на мітотичну активність клітин *A. сера*, зменшуючи кількість мітозів, які одночасно спостерігалися (табл.1).

Спостерігають також генотоксичні фони поверхневих водойм, в які потрапляють стічні води вугільної промисловості. Це стосується, зокрема, річок Західний Буг, Солокія та притоки р. Солокія. Мутагенна активність цих зразків проявлялася в індукції генних мутацій за механізмом заміни пар азотистих основ, хромосомних аберацій, соматичних мутацій і рекомбінацій. Виявлені зміни мітотичної активності клітин *A. сера*, пророщених на зразках води з річки Західний Буг, відібраних в містах Сокалі та Червонограді. Зразки води, відібрані з Західного Бугу до надходження у систему водозабезпечення шахт (м. Сокаль) володіли підвищеною мітотичною активністю. Зразки води, відібрані у м. Червонограді виявляли протилежні властивості, тобто спостерігався інгібуючий ефект. Така зміна в характері процесу проліферації може свідчити про зміну хімічного складу води.

Щодо хімічної промисловості та суміжних галузей промисловості, то відомо, що вони дають близько 79% небезпечних відходів. Наприклад, епоксиди, етиленаміни, алкілсульфати, лактони, сульфони та інші, які є джерелами введення в молекулу ДНК алкільних радикалів [10, 11]. З підприємств хімічної промисловості було відібрано

та проаналізовано зразки стічних вод з Бориславського ВТП "Галлак", ВАТ "Сокальський завод хімволокна" та ВАТ "Оріана" (м. Калуш). Незважаючи на специфіку виробництва (хімволокно, лако-фарбові вироби, вінілхлорид, каустична сода, мінеральні добрива та ін.) стоки всіх вивчених підприємств хімічної промисловості показали мутагенну активність, яка проявлялася в індукції генних мутацій, хромосомних аберацій та пригнічували проліферацію клітин. Значний генотоксичний ефект виявлений і в зразках, безпосередньо взятих з поверхневих водойм, куди потрапляють стоки з хімічного виробництва (табл. 1).

Стічні води з підприємства нафтопереробної промисловості Львівщини (АТ НПК "Галичина", м. Дрогобич) теж володіли мутагенною активністю, яка проявлялася в індукції генних мутацій за обома механізмами, хромосомних аберацій, домінуючих летальних мутацій та інгібуюче впливали на процес поділу клітин. Особливо це стосувалося зразків водних відходів до проходження через очисні системи. Після очищення мутагенність дещо зменшувалася, але не знімалася. Відомо, що генотоксичність стоків нафтопереробних підприємств зумовлена присутністю алкільованих поліциклічних ароматичних вуглеводнів та важких металів [10,12]. Виробничі стічні води на нафтопереробних заводах утворюються практично на всіх технологічних стадіях. Серед хімічних сполук, які присутні у стоках слід відмітити нафтеніві кислоти і їх солі, феноли, бензол, толуол, етильовані нафтопродукти, тетраетилсвинець, 3,4-бензопірен. Зразки води з природних водойм, куди потрапляють стоки АТ НПК "Галичина" (р. Тисмениця і р. Раточи-

на) теж володіють мутагенною активністю (табл. 1).

Поряд з індукцією генних та хромосомних аберацій зразками води з деяких рік Львівської області та стічних вод з підприємств різних галузей виробництва спостерігали порушення мітотичної активності меристеми первинних корінців *A. сера* та нормально-го розподілу клітин за фазами мітозу (табл. 2). Зразки води з річки Західний Буг, які були відібрані в м. Сокалі, та з річки Солокія активуюче впливали на процес проліферації клітин, що проявлялося у збільшенні кількості клітин, які вступають у поділ. Таке збільшення

тин на стадії анафази. Щодо інших вивчених зразків, то вони інгібували процес поділу клітин, про що свідчило зменшення мітотичного індексу. Характер реакції проліферуючих клітин тест - рослини на дію екотоксикантів залишався, як правило, незмінним. Мітотична депресія виражалась, як у функціональній блокаді веретена поділу, що зумовлювало збільшення кількості метафазних клітин, так і в порушенні процесу цитокінезу, що сприяло нагромадженню телофаз (табл. 2).

Таким чином, нами показано, що стічні води з підприємств різних галузей виробництва володіють широким

Таблиця 2. Аналіз мітотичної активності меристемних клітин *A. сера*, експонованих водою з рік Львівської області та стічних вод з різних галузей виробництва

№ п/п	Зразок	Мітотична активність	Профаза	Метафаза	Анафаза	Телофаза
Вугільна промисловість:						
1.	Шахти Львівсько-Волинського вугільного басейну	Інгібуючий вплив	-	-	-	-
2.	р. Західний Буг	Інгібуючий вплив	<	>	-	>
		Активуючий вплив	>	-	>	<
3.	р. Солокія	Активуючий вплив	-	-	<	-
Хімічна промисловість:						
4.	ВАТ "Сокальський завод хімволокна"	Інгібуючий вплив	<	>	-	>
Нафтопереробна промисловість:						
5.	АТ НПК "Галичина"	Інгібуючий вплив	>	-	-	>
6.	р. Тисмениця	Інгібуючий вплив	<	>	-	>

Примітки: "<" - зменшення кількості проліферуючих клітин;
">" - збільшення кількості проліферуючих клітин.

проліферуючих клітин може свідчити про наявність в цих зразках канцерогенів. Аналіз фазових індексів кожної з фаз мітозу показав, що спільним для цих зразків є зменшення кількості клі-

діапазоном генотоксичних ефектів, а також мають здатність впливати на проліферацію клітин. Причому, генотоксичні ефекти виявлені нами і при обстеженні води з наземним природ-

них водойм, куди потрапляють ці стоки. Це може свідчити про генетичну небезпеку для живих організмів довкілля та людини зокрема.

Тому, наступним етапом нашої роботи було проведення генотоксикологічного дослідження підземних вод, оскільки саме артезіанські свердловини є основними джерелами водопостачання для питної води в місті Львові.

На сьогодні Львівський водопровід охоплює 17 водозаборів, в тому числі 174 діючі свердловини, розкидані по території області, 27 помпових станцій. Старі водоводи дають Львову воду з крехівських артезіанських джерел, на заході - з Волі Добростанської, а основне джерело постачання - підземні води Стрийської заплави. Виявлено, що з 9 проаналізованих нами зразків артезіанської води у 2 випадках зафіксовані сумарні мутагенні ефекти. Проте, додаткове мутагенне навантаження отримує вода з артезіанських свердловин після проходження через системи знезараження. Знезараження питної води на Львівському водопроводі проводять зрідженням хлором. Залежно від об'єму води та протяжності водопроводу, в деяких випадках доводиться додатково хлорувати воду, як це, наприклад, відбувається на помповій станції Кривчиці. Далі вода надходить у водорозподільну мережу.

В тесті Еймса з 7 проаналізованих зразків хлорованої води індукцію генних мутацій виявлено у зразків з п/с Винники та з п/с Будзень-3. Відомо, що мутагенність хлорованої води може бути зумовлена утворенням нелетких хлорорганічних сполук, які утворюються в результаті реакції хлору з гуміновими та фульвокислотами і лет-

ких тригалометанів [13]. Нами виявлена також індукція хромосомних аберацій та соматичних рекомбінацій, особливо в зразках води з п/с Карачинів.

Для виявлення генотоксичних ефектів при інших способах знезараження питної води, які застосовуються в Західному регіоні України проведене дослідження зразків води, які використовуються для водопостачання Львівської залізниці. Крім Львівської зразки були відібрані з Закарпатської та Рівненської областей. Джерелами водопостачання були як артезіанські свердловини, так і поверхневі водойми (р. Вишня та р. Латориця). Як дезінфектанти при водопідготовці використовували як хлорне вапно, рідкий хлор, так і ультрафіолетові промені. Порівнюючи зразки, які відрізняються джерелами водопостачання, але в обох випадках знезаражуються хлорним вапном (Мукачеве і Мостиська-2), виявили, що мутагенною активністю володіла вода, джерелом постачання якої була поверхнева водойма (р. Вишня). У випадку застосування різних дезінфектантів (рідкий хлор і хлорне вапно) при однаковій очистці та різних поверхневих джерелах водопостачання (Чоп - р. Латориця, Мостиська-2 - р. Вишня) мутагенні ефекти проявляла питна вода, знезаражена хлорним вапном. Зразки води, дезінфіковані ультрафіолетовим опроміненням (Сарни і Брюховичі) не індукували генних мутацій та хромосомних аберацій. Таким чином, виходячи з результатів наших досліджень, особливо небезпечним щодо мутагенного навантаження є знезараження води шляхом хлорування, а, особливо, при використанні як джерела водопостачання поверхневих водойм.

З літератури відомо, що 70 - 90% органічних речовин, утворених при хлоруванні складає хлороформ. За даними Національного онкологічного центру США 1,6% загального числа випадків захворювання раком печінки і 1,4% від загального числа випадків захворювання раком нирок можуть бути віднесені на рахунок наявності хлороформу в питній воді [14]. Тому, зразки хлорованої води були обстежені на наявність хлорорганічних сполук (хлороформу та 1,2-дихлоретану). Виявлено високі концентрації хлороформу, які перевищували ГДК в 54 рази у випадку Мостиськ, 19 разів у випадку Мукачева і 14 разів у випадку Брюхович. Дихлоретану в зразках не виявлено.

Цікаво було в'ясувати, які генотоксичні ефекти здатні проявляти деякі хлорорганічні сполуки (хлороформ, чотирихлористий вуглець, трихлороцтова кислота, 1,2-дихлоретан) при концентраціях, які отримували в реальних зразках. Аналізували розчини цих сполук в трьох концентраціях: 1, 10, і 100 ГДК. Дослідження проводили з використанням тесту Еймса Показано, що типові поллютанти питної води володіють здатністю викликати генні мутації. Найбільший мутагенний ефект спостерігався у розчинів чотирихлористого вуглецю, найменший - у розчинів дихлоретану. Для хлороформу, тетрахлориду вуглецю і дихлоретану відмічений доза-залежний ефект.

Щодо можливої корекції мутагенних ефектів поллютантів питної води, були проведені дослідження можливості та ефективності використання природних та синтетичних сорбентів. Серед сорбентів нами вибрані глауконіти - мінерал групи гідрослюд. Наявність в його структурі обмінних катіо-

нів і здатних до набрякання шарів зумовили широкий спектр сорбційних властивостей цього мінералу. В досліджах використовували незбагачену і неактивовану породу - глауконітоліт з вмістом глауконіту приблизно 60%.

Застосування глауконітів проводили в тих випадках, де нами була точно зафіксована мутагенна активність. Це стосувалося як нативних зразків води (з хлораторних станцій та мережі) такі модельних розчинів Використовували сорбенти в концентраціях 5 і 10% від маси розчину. Найкраще глауконіти знімали мутагенну активність розчинів дихлоретану, хлороформу. У випадку чотирихлористого вуглецю позитивні ефекти отримані нами лише при 10% глауконітів. Проте не спостерігали достовірного зниження мутагенної активності модельних розчинів трихлороцтової кислоти.

Тому ми вирішили підібрати інші природні і синтетичні сорбенти для зняття мутагенних фонів. Серед природних сорбентів нами були вибрані:

- трепел - відноситься до дисперсних кремнеземів. Трепели є, в основному макропористими утвореннями. За рахунок цих макропор і відбувається адсорбція;

- цеоліти - кристалічні силікати Вони характеризуються правильною просторовою структурою з порівняно великими відстанями між вузлами каркасу. У силікатному каркасі частина іонів Si^{4+} заміщена іонами Al^{3+} ; один елементарний заряд на кожен атом алюмінію компенсується іонами лужних або лужно-земельних металів, які можуть обмінюватися на інші йони Особливістю цеолітів є наявність у структурі системи порожнин і каналів які містять у собі катіони та молекули води. Для процесів сорбції та іонного

обміну важливе значення мають розміри та положення каналів, по яких молекули проникають у внутрішньокристалічний вільний об'єм;

- активоване вугілля - пористий адсорбент. Поверхня кристалітів вуглецю електронейтральна, тому адсорбція на вугіллі в основному визначається дисперсійними силами взаємодії [15,16].

А серед синтетичних були вибрані синтетичні обмінні смоли. Їх каркас, так звана матриця, складається з неправильної просторової сітки вуглеводневих ланцюгів. У матриці закріплені групи, які несуть заряд, - фіксовані іони. Властивості іонообмінних смол в основному визначаються кількістю та типом фіксованих іонів, а також будовою матриці. В роботі використовували іонообмінні смоли АВ-178 і КУ2-8 (аніоніти і катіоніти) у співвідношенні 1:1[17]. Отримані нами в тесті Еймса результати при концентрації сорбентів 5% від маси свідчать про те, що повністю мутагенні ефекти хлороформу усувала експозиція з цеолітами. Абсолютно неефективними щодо зняття мутагенної активності виявилися трепели. Іонообмінні смоли та активоване вугілля зменшували мутагенність хлороформу в концентрації 0,06мг/л (1ГДК). Схожа картина спостерігалась і при 10-% вмісті сорбентів.

Таким чином, в даній роботі вперше проведений скринінг на мутагенну активність водних басейнів Львівщини. Виявлено, що значний внесок в мутагенне навантаження поверхневих водойм належить стічним водам з підприємств різних галузей виробництва. Показано, що очисні споруди проаналізованих нами підприємств не забезпечують повної нейтралізації стічних вод від генотоксичних агентів. Нез-

важаючи на те, що підземні заплави вважаються за різними критеріями чистими, нами при дослідженні води з 9 артезіанських джерел у 2 випадках зафіксовано індукцію генних мутацій. Після проходження води з підземних заправ через системи знезараження шляхом хлорування виявлене збільшення мутагенних фонів. Вперше для корекції мутагенних фонів побічних продуктів хлорування води нами застосовані деякі природні та синтетичні сорбенти. Найефективніше зменшення мутагенної активності модельних розчинів поллютантів питної води отримали при експозиції з цеолітами. Показана вибірково дія глауконітолітів. Неефективним виявився трепел. Для зменшення мутагенних фонів питної води, зумовлених хлорорганічними сполуками можна рекомендувати застосування таких сорбентів як цеоліти, глауконіти, активоване вугілля, іонообмінні смоли (сорбенти подано в порядку зменшення їх ефективності). Збільшення концентрації сорбентів з 5% до 10%, як правило, не впливає на зменшення мутагенності досліджуваних розчинів хлороформу сполук.

Перелік літератури

1. Дурнев А. Д., Середенин С. Б. Мутагены (скрининг и фармакологическая профилактика воздействий)./ М.: Медицина, 1998. - 328 с.
2. Vartiainen T., Lampelo S. Effects of human placental S9 and induced rat liver S9 on the mutagenicity of drinking waters processed from humus-rich surface waters // Environ. and Mol. Mutagenes. - 1990. - 15, N 4. - P. 198-204.
3. Кириченко Л. П., Перепелятников Г. П. Применение природных адсорбентов Украины для уменьшения миграции растворенных радионуклидов в почвах. // "Экологические аспекты загрязнения окружающей среды".- тезисы докл. Меж-

- дународной научно-практической конференции. - Ч.1. - Киев. - 1980. - С.24-25.
4. Николаева И. В. и др. Минералогия и геохимия глауконита. - М.: Наука, 1972. - 69 с.
 5. Тарасевич Ю. И. Адсорбция на глинистых минералах. - К.: Наук.думка, 1975. - 352 с.
 6. Фонштейн Л. М., Абилов С. К., Бобринев Е. В. и др. Методы первичного выявления генотоксической активности загрязнителей среды с помощью бактериальных тест-систем. (Методические указания). М., 1985. - С. 32-35.
 7. Зубко О. С. Еколого-генетична оцінка територій з різною інтенсивністю застосування пестицидів: Автореф. дис. на здобуття вченого ступеня канд. біол.наук. - К.:1994. - С.29.
 8. Hoffiman C. R. Overview of genetic toxicology // Genet. toxicol: Arg. Prespect. proc. Symp. Dawis Calif. New York. London. - 1990. - P. 5-27.
 9. Екологія з елементами біології / Ред. Назарука М. М., Магури Н. Л. - ЛОНМІО, 1995. - 158 с.
 10. Houk V. S. The genotoxicity of industrial wastes and effluents // Mutat. Res. - 1992. - N 277. - P. 91-138.
 11. Ковальчук А. С., Случик В. М., Геращенко С. Б. Оцінка генетичного ефекту дії факторів хімічного виробництва // Цитологія і генетика. - 1994. - т.28, № 3. - С. 41-47.
 12. Сьяксте Т. Г., Сьяксте Н. И. Химические соединения повреждающие ДНК. - Рига, Зинатне, 1991. - 152 с.
 13. Дуган А. М., Бариляк И. Р. Влияние дезинфектантов на качество питьевых вод // Химия и технология воды. - 1996. - 18, № 5. - С. 533-539.
 14. World health organization, our planet, our health. Report of the WHO Commission on Health and the Environment. - Geneva. WHO, 1992. - P. 1-8.
 15. Цицишвили Г. В., Андроникашвили Т. Г., Киров Г. Н., Филизова Л. Д. Природные цеолиты. - М.: Химия, 1985. - 224 с.
 16. Тарасевич Ю. И. Природные сорбенты в процессах очистки воды. - К.: Наукова думка, 1981. - 207 с.
 17. Чернобруков Н. Г., Коригунов И. А., Шуклина Н. П. Иониты и ионный обмен. - Л.: Наука, 1985. - 175 с.

Представлено Л. Л. Лукаш
Надійшла 21 02 2005 р

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПОВЕРХНОСТНЫХ И ПОДЗЕМНЫХ ВОД ЛЬВОВЩИНЫ ТА КОРРЕКЦИЯ МУТАГЕННЫХ ФОНОВ ПРИРОДНЫМИ ИЛИ СИНТЕТИЧЕСКИМИ СОРБЕНТАМИ

А.В.Фединяк, Л.С. Боднар, А.М. Дуган¹,
И.Р. Бариляк¹

Львовский национальный университет имени Ивана Франко,
79000, Львов, ул. Университетская, 1

¹Институт гигиены и медицинской экологии имени О.М. Марзеева АМН Украины,
Киев, ул. Полудренко, 51

Впервые проведено скрининг на мутагенную активность водных бассейнов Львовщины. Выявлено, что значительный взнос в мутагенную нагрузку поверхностных водоемов принадлежит сточным водам из предприятий разных отраслей производства. Показано, что очистительные сооружения не обеспечивают полной нейтрализации сточных вод от генотоксических агентов. Также при исследовании воды с 9 артезианских источников в 2 случаях нами зафиксирована индукция генных мутаций. После прохождения воды из подземных источников через системы обеззараживания путем хлорирования показано увеличение мутагенных фонов. Впервые для коррекции мутагенных фонов побочных продуктов хлорирования воды нами применены некоторые природные и синтетические сорбенты. Самое эффективное уменьшение мутагенной активности получили при экспозиции с цеолитом. Показанное выборочное действие глауконитолитов. Неэффективным оказался трепел.

Ключевые слова: генотоксические эффекты, мутагенность, сточные воды, питьевая вода, природные сорбенты.

GENETIC EFFECTS OF SUPERFICIAL AND UNDERGROUND WATERS OF L'VIV REGION THAT CORRECTION MUTAGEN BACKGROUNDS NATURAL OR SYNTHETIC SORBENTS

A. V Fedynyak, L. S. Bodnar, A. M. Dugan¹,
I. R. Bariliak¹

Ivan Franko national university of L'viv,
79000 L'viv, Universytets'ka str, 1

¹Institute of hygiene and medical ecology name
of O. M. Marzeev AMS Ukraine
Kyiv, Popudrenka str, 5

For the first time the lead screening on mutagen activity of water pools of L'viv region. It is revealed, that the significant payment in mutagen loading of superficial reservoirs belongs to sewage from the enterprises of different branches of manufacture. It is shown, that cleaning constructions do not provide full neutralization of sewage from genotoxic

agents. Also at research of water from 9 artesian sources in 2 cases we fix an induction of genic mutations. After passage of water from underground sources through systems of disinfecting by chlorination the increase mutagen backgrounds is shown. For the first time for correction mutagen backgrounds by products chlorination of water us the applied some natural and synthetic sorbents. The most effective reduction of mutagen activity have received at an exposition with zeolite. The shown selective action glaukonite. Inefficient appeared trepel.
Key words: genetic effects, mutagen, sewages, potable water, natural sorbents.

УДК 572.24: 581.3:614.7

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ ДОВКІЛЛЯ ТА ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ

А. І. ГОРОВА, Т. В. СКВОРЦОВА, І. І. КЛІМКІНА, А. В. ПАВЛИЧЕНКО,
Ю. В. БУЧАВИЙ

Національний гірничий університет, кафедра екології,
49027, м. Дніпропетровськ, пр. К Маркса 19,
тел.: (0562) 45-85-16, e-mail: gorovaa@nmu.org.ua

Здоров'я людини зумовлюється як внутрішніми спадковими факторами, так і зовнішніми - станом довкілля. Запропоновано комплексний підхід до оцінки якості навколишнього природного середовища та стану здоров'я населення з використанням високочутливих цитогенетичних методів біоіндикації. Рекомендується широкомасштабне впровадження методології цитогенетичного моніторингу об'єктів навколишнього середовища на території України.

Ключові слова: цитогенетичний моніторинг, здоров'я людини, спадкові фактори

Вступ. Інтенсивний вплив людини на навколишнє природне середовище призвів до зміни природної рівноваги, що може призвести до дії таких природних механізмів, які вже без втручання людини і всупереч їй завершать процеси деградації навколишнього середовища. В зв'язку з цим раціональна господарська діяльність неможлива без постійного контролю за станом навколишнього середовища, як неможливе прийняття вірних управлінських рішень в екологічному значенні без наявності даних, що адекватно відображають стан довкілля, біоти і людини. У зв'язку з цим, в умовах високої екологічної напруженості, коли 80% шкідливих речовин, що потрапляють в природне середовище, мають мутагенні і канцерогенні властивості, особливе значення набувають дослідження, спрямовані на виявлення цитогенетичних порушень від дії несприятливих чинників навколишнього середовища на живі організми і оцінку якості навколишнього середовища за мутагенним і генотоксичним фоном на основі цих виявів.

Зараз на території України функціонує державна система моніторингу довкілля, яка часто зводиться до фізико-хімічного аналізу вмісту окремих забруднювачів, в т. ч. мутагенів, в різних об'єктах навколишнього середовища. Особливо гостро стоїть проблема впровадження та розвитку системи біологічного моніторингу, головною задачею якого є

визначення стану біотичної складової біосфери, її реакції на антропогенний вплив, вивчення залежності "доза-ефект", а також пошук критеріїв допустимого навантаження на природне середовище з урахуванням регіональних особливостей і визначенням критичних ланок у біосфері, які зумовлюють це навантаження. Важливе місце в біологічному моніторингу займає генетичний моніторинг, який включає широкомасштабне вивчення генетичних наслідків забруднення навколишнього середовища на різних рівнях організації живих організмів, включаючи людину.

В Україні вже проводиться генетичний моніторинг мутаційного навантаження на популяцію людини. Зокрема, здійснюється облік числа новонароджених з вродженими аномаліями, частоти загибелі ембріонів та розроблені методи обліку хромосомних мутацій на метафазах в культурі лімфоцитів людини, клітин ембріонів та кісткового мозку.

Враховуючи складність проведення прямого моніторингу за мутаціями у людини, в останні роки все більше уваги приділяється використанню в цьому моніторингу відповідних реакцій біоіндикаторів (бактерій, рослин, тварин) під впливом мутагенів-забруднювачів навколишнього середовища.

Потрібно зазначити, що при моніторингу мутагенів у навколишньому середовищі використання біотестів має основне значення, а саме тому на основі їх відгуків проводиться оцінка генетичного ризику забруднень навколишнього середовища. Нарівні з модельними тест-системами починають широко використовуватися біосферні тест-системи, на різних біологічних видах в природних умовах, проводя-

ться дослідження генетичних наслідків сумарного забруднення мутагенами навколишнього середовища.

Крім того, у зв'язку з трудомісткістю (великі об'єми вибірок і багаторічний аналіз у нащадків) генетичні методи можуть бути використані в окремих випадках на модельних, добре вивчених об'єктах. Враховуючи це, особливо увагу привертають цитогенетичні методи діагностики рівня забруднення навколишнього середовища, які дозволяють зафіксувати вплив мутагенів на генному рівні при короткочасній і хронічній дії, а також при сполученій дії фізичних і хімічних шкідливих чинників. Універсальність таких методів зумовлена спільністю реакцій клітин організмів різного рівня походження і організації на широкий спектр антропогенних навантажень. Вважають, що 60-70% речовин з встановленою генетичною активністю мають схожу мутагенну і канцерогенну дію на рослини, тварин та людину.

Все вищенаведене підтверджує необхідність організації національної системи еколого-генетичного моніторингу, де за допомогою цитогенетичних методів та високочутливих тест-систем різних рівнів організації буде виконана інтегральна оцінка еколого-генетичної та загальної екологічної небезпеки для людини від забруднення довкілля.

Найбільш зручними об'єктами для моніторингу забруднення навколишнього середовища є рослини, бо вони є первинними ланками трофічних ланцюгів, виконують основну роль в поглинанні різноманітних забруднювачів і постійно зазнають їх дію внаслідок закріплення на субстраті. При вивченні еколого-генетичних наслідків забруднення довкілля мутагенними чин-

никами успішно застосовуються цитогенетичні методи з використанням рослинних тест-об'єктів.

Одним з найважливіших напрямків у вивченні наслідків антропогенного впливу на навколишнє середовище є дослідження мутаційних процесів, що відбуваються в природних популяціях рослинних організмів. Для оцінки мутагенності *in situ* широко використовується аналіз мітотичних або мейотичних клітин рослин, що знаходяться в досліджуваних екосистемах. При цьому перевага віддається ендогенним біоіндикаторам.

Оптимальним матеріалом для дослідження хромосомного апарату у рослин з метою біоіндикації мутагенів, що потрапляють у навколишнє середовище, є паростки на ранніх стадіях розвитку, до моменту їх диференціації. Цей цитогенетичний показник може служити критерієм рівня забруднення території радіонуклідами, важкими металами і пестицидами.

Визначення мутагенності проб повітря, води, ґрунту в лабораторних умовах проводиться на ряді тест-об'єктів. При цьому рекомендовано використовувати методи, що дозволяють виявити генні мутації, хромосомні порушення і пошкодження ДНК (одно та двониткові розриви, зшивки між ланцюгами ДНК, тощо).

Для оцінки мутагенності ґрунтів треба використовувати тест-системи, в основі відгуку яких лежать неспецифічні реакції, причому перевага віддається організмам чутливим до дії декількох забруднювачів. Таким універсальним об'єктом виявилася *Tradescantia poludosa*, клон 02 (ВТН тест) яку можна використовувати не тільки для оцінки генотоксичності забруднених пестицидами ґрунтів, але й для

вивчення мутагенної дії солей важких металів і радіонуклідів [1].

Для біоіндикації мутагенів в ґрунтах найбільш широко застосовується цитогенетичний аналіз клітин таких класичних тест-об'єктів, як рослини - *Allium cepa* L., *Pisum sativum*, *Vicia sativa* і ін. Про мутагенність проб ґрунту судять по зміні рівня аберації хромосом в клітинах кореневої меристеми паростків, а токсичний вплив встановлюють по зміні мітотичної активності і співвідношення фаз мітозу.

У генетичному моніторингу атмосферного повітря, як біологічний тест застосовується популяція клітин пилку рослин. Негативні наслідки забруднення навколишнього середовища відбиваються не тільки в загальнотоксичній дії, але і в віддалених ефектах цієї дії - гонадотоксичність, ембріотоксичність, тератогенез, мутагенез, цитотоксичність та ін. Внаслідок цього погіршується фізіологічний стан нащадків, що в свою чергу призводить до зміни генетичного статусу популяції взагалі. Враховуючи, що первинною ланкою цих порушень є зміна в генеративній сфері, можна сказати, що найбільш перспективним індикатором первинних генетичних порушень в популяціях рослин є мікроспорогенез.

Особливе місце в оцінці мутагенності атмосферного повітря займає тест Еймса, який використовується в системі генетичного моніторингу популяцій з урахуванням забруднення навколишнього середовища комплексом мутагенів [2].

Одним із можливих скринінгових експрес-методів оцінки мутагенних впливів є метод підрахунку частоти появи мікроядер в епітеліоцитах слизової оболонки порожнини рота лю-

дини. Встановлено, що мікроядерне тестування у соматичних клітинах слизової оболонки ротової порожнини людини за своєю чутливістю не поступається тестуванню за показниками хромосомних аберацій в культурі лейкоцитів периферичної крові людини та клітинах кісткового мозку тварин, але і за технічним виконанням цей метод набагато простіший.

З огляду на вищевикладене, ми вважаємо за можливе рекомендувати використання високочутливих цитогенетичних тестів для оцінки токсикомутагенної активності об'єктів навколишнього середовища та впливу на організм людини шкідливих екологічних і виробничих факторів.

На стан здоров'я населення, як відомо впливає стан навколишнього середовища. Крім того здоров'я нації є важливим інтегральним показником рівня цивілізації суспільства та його соціально-економічного розвитку. Не випадково, що в розвинених країнах стан здоров'я населення розглядається як критерій якості життя і один з головних пріоритетів у діяльності урядів [3].

Однією з стратегій, що підтримує ВООЗ на теперішньому етапі є Сприяння здоров'ю (Health Promotion), це сучасна філософія суспільства, яке йде до здорового майбутнього. Основу концепції Сприяння здоров'ю складає створення умов, які дають можливість людям посилити контроль над оточуючим середовищем та покращити своє здоров'я за рахунок реформування системи охорони здоров'я та підвищення загального рівня добробуту населення.

Високий рівень забруднення атмосферного повітря, води, ґрунту, продуктів харчування призводить до під-

вищення рівня захворюваності населення та погіршення демографічних показників. В Україні постійно зростає захворюваність населення хворобами ендокринної системи, крові та кровотворних органів, алергічними хворобами, новоутвореннями, хронічними неспецифічними хворобами органів дихання та ін. В останні роки спостерігається постійне зниження народжуваності і збільшення смертності населення, що призвело до негативних тенденцій зміни показників природного приросту та відтворення населення. Саме тому питання оцінки та управління формуванням здоров'я набувають в Україні все більшого значення.

У формуванні здоров'я населення велику роль відіграють так звані фактори ризику, які підвищують ймовірність виникнення захворювання чи смерті.

При оцінці популяційного здоров'я у світовій практиці прийнято використовувати комплексний підхід до визначення поняття "здоров'я" населення. Під цим розуміють умовне статистичне поняття, яке досить повно характеризується комплексом показників: демографічних, фізичного розвитку, захворюваності, інвалідності, частоти донозологічних станів.

Облік перших двох груп показників передбачений офіційною статистичною документацією, що оформлюється органами статистики та закладами охорони здоров'я.

В залежності від концентрації забруднень у оточуючому людину середовищі, а також від стану організму (генетично обумовлена схильність до патології), біологічні відповіді можуть бути різної виразності: від механічного нагромадження токсиканта у біосередовищах і біосубстратах, через

неспецифічні і специфічні функціональні зміни, до формування хронічної патології і смерті.

Поняття здоров'я за визначенням ВООЗ характеризується як стан повного соціального, духовного та фізичного благополуччя людини. Здоров'я населення - це відображення складного комплексу явищ в довкіллі. На процес його формування впливає ціла низка біологічних, соціально-економічних, природнокліматичних та інших факторів. Здоров'я людини зумовлюється як внутрішніми спадковими факторами, так і зовнішніми - станом довкілля. Так, фізичне здоров'я залежить від початкового стану геному людини, спадкової конституції організму. В той же час, забруднення довкілля (повітря, води, продуктів харчування) токсикомутагенними сполуками негативно впливає на стан здоров'я і визначається як спадковою емоціональною структурою організму, яка дозволяє адекватно реагувати на різні зміни в довкіллі, так і зовнішніми умовами в соціумі - атмосферою любові, доброзичливості та поваги до людини. Соціальне положення та благополуччя людини залежить від матеріальної спадщини, що є результатом його попередньої праці, або набутої ним від попереднього покоління, а також від природно-географічних умов в місці його проживання, які дають можливість одержувати життєво необхідну продукцію з економічною ефективністю та екологічною доцільністю. Слід відмітити, що розповсюдженість окремих класів хвороб використовувався як біологічний параметр на рівні популяції населення

Матеріали і методи

Якість повітряного басейну, ґрунтів

та водних джерел визначалась методами біоіндикації. З цією метою були використані високочутливі індикатори (рослини, діти) і цитогенетичні тест-системи: "Стерильність пилку", "Аберрантність хромосом", "Мітотичний індекс" і "Мікроядерний тест".

Загальна токсичність (потенційна мутагенність) атмосферного повітря визначалася за тестом "Стерильність пилку рослин". Для визначення рівня стерильності пилку застосовували йодний метод забарвлення. Встановлено, що клітини фертильного та стерильного пилку відрізняються по кількості крохмалю. Фертильні пилкові зерна повністю заповнені крохмалем, а стерильні - не містять його взагалі або мають його сліди. Фертильні пилкові зерна забарвлюються в охристокоричневі відтінки різної потужності, а стерильні не забарвлюються, або забарвлюються фрагментарно на 20-30 %, набувають слабкий практично прозорий світло-жовтий тон.

В якості фітоіндикаторів застосовують наступні представники місцевої флори, які були класифіковані за рівнями спонтанної стійкості (чутливості) клітин пилку до дії несприятливих факторів: 1 група - *Convolvulus arvensis* L., *Calendula officinalis* L., *Catalpa ovata* J. Don. Fil., *Linaria vulgaris* Mill.; 2 група - *Syringa vulgaris* L., *Melilotus albus* Medik., *Sinapis arvensis* L., *Achillea micrantha* Willd., *Saponaria officinalis* L., *Matricaria chamomilla* L., *Malva erecta* J. et C. Presl., *Echim vulgare* L., *Chelidonium majus* L., 3 група - *Melilotus officinalis* (L.) Pall., *Berteroa incana* L., *Verbascum thymitis* L., *Castanea vulgaris* Lam., *Convallaria majalis* L., *Consolida regalis* S. F. Gray, *Anthrinum majus* L., 4 група - *Tritolium*

repens L., *Lotus corniculatus* L., *Papaver rhoeas* L., *Reseda odorata* L.

Характеристика цих груп фітоіндикаторів за показниками стерильності клітин пилку в екологічно чистих ($\Pi_{\text{комф.}}$) та максимально забруднених ($\Pi_{\text{крит.}}$) територіях приведена в табл. 1.

токсичної дії забруднювачів ґрунтів або водних джерел.

На цих же препаратах враховували клітини з аберантними (патологічними) хромосомами: мости і фрагменти в анафазах і телофазах, а також злипання і пульверизація хромосом у ме-

Таблиця 1. Характеристика фітоіндикаторів різних груп стійкості за ознакою "стерильність пилку"

№ групи	Характеристика групи стійкості (чутливості)	Стерильність пилку, %	
		$\Pi_{\text{комф}}$	$\Pi_{\text{крит}}$
1.	Високостійкі	0,2±0,14	10,0±0,95
2.	Стійкі	0,5±0,22	20,0±1,26
3.	Середньостійкі	1,0±0,30	30,0±1,45
4.	Чутливі	1,5±0,38	40,0±1,55
5.	Високочутливі	2,0±0,44	50,0±1,58

Тести "Аберантність хромосом" і "Мітотичний індекс" в клітинах кореневої меристеми *Allium cepa* L., застосовувалися для визначення мутагенності і токсичності ґрунтів та водних джерел. Насіння *Allium cepa* L. пророщувалося на фільтрувальному папері в чашках Петрі при 22°C. При появі первинних корінців довжиною 7-9 мм їх фіксували в ацетоалкоголі протягом 1 години, а потім переносили у 70° етанол. Фарбування біооб'єктів проводили реактивом Шиффа по Фельгену з попереднім гідролізом у 0,1 н соляній кислоті при температурі 60°C. На цитологічних препаратах враховували усі фігури мітозу: профаза, метафаза, анафаза, телофаза, що зустрічаються від 5 до 6 тис. переглянутих меристематичних кліток. Мітотичний індекс виражали у промілях (число мітозів на 1 тис. кліток). Зниження мітотичного індексу в порівнянні з контролем вважали результатом загально

тафазі. Частоту зустрічаємості патологічних фігур мітозу виражали у відсотках від клітин, що поділяються, і частоту патологічних анафаз і телофаз від переглянутих аналогічних фаз мітозу (не менш 200). По зростанню числа патологічних фігур мітозу, у порівнянні з контролем судили про збільшення мутагенності ґрунтів, чи води.

"Мікроядерний тест" в соматичних клітинах ротової порожнини у дітей дошкільного віку використовувався для оцінки загальної мутагенності території, на якій мешкають діти. Кожна серія досліджень включає групу дітей від 4-7 років в кількості від 25 до 60 осіб із приблизно однаковим співвідношенням статі. Мазки слизової оболонки ротової порожнини брали з внутрішньої сторони правої і лівої щокки і нижньої губи за допомогою стерильного ватяного тампону на індивідуальній скіпі з послідуочим нанесенням

їх на предметне скло. Фіксували мазки 1 годину у 96%-ному етанолі. Фарбували препарати реактивом Шиффа за Фельгеном. При визначенні частоти зустрічаємості клітин з мікроядрами враховували їхню кількість і відносили до загального числа ядромістких клітин. Аналізували до 1000 клітин у кожному варіанті. Мікроядерний індекс розраховували за частотою зустрічання мікроядер на 1 клітину.

Аналіз стану здоров'я населення проведено за медико-статистичними даними згідно розробленої методології оцінки "Здоров'я населення" за інтегральними показниками. Згідно до методології ієрархічна структура цього показника характеризується наступними складовими частинами:

- здоров'я дитячого населення;
- здоров'я дорослого населення;
- генетичне здоров'я.

Для визначення інтегрального показника здоров'я дитячого та дорослого населення враховувалася поширеність хвороб за класами: всі хвороби; інфекційні та паразитарні хвороби; новоутворення; хвороби крові та кровотворних органів; хвороби ендокринної системи; психічні розлади; хвороби нервової системи та органів чуття; хвороби системи кровообігу; хвороби органів дихання; хвороби органів травлення; хвороби сечостатевої системи; хвороби шкіри та підшкірної клітковини; хвороби кістково-м'язової системи та сполучної тканини; вроджені аномалії (вади розвитку).

Для визначення генетичного здоров'я населення враховувалися: вроджені аномалії (вади розвитку) дитячого населення; смертність дітей у віці до одного року; новоутворення у дітей та дорослого населення.

Для визначення природного руху населення враховувалися: народжуваність; смертність; смертність дітей у віці до одного року.

Результати та обговорення

Методика інтегральної оцінки якості навколишнього природного середовища та здоров'я населення.

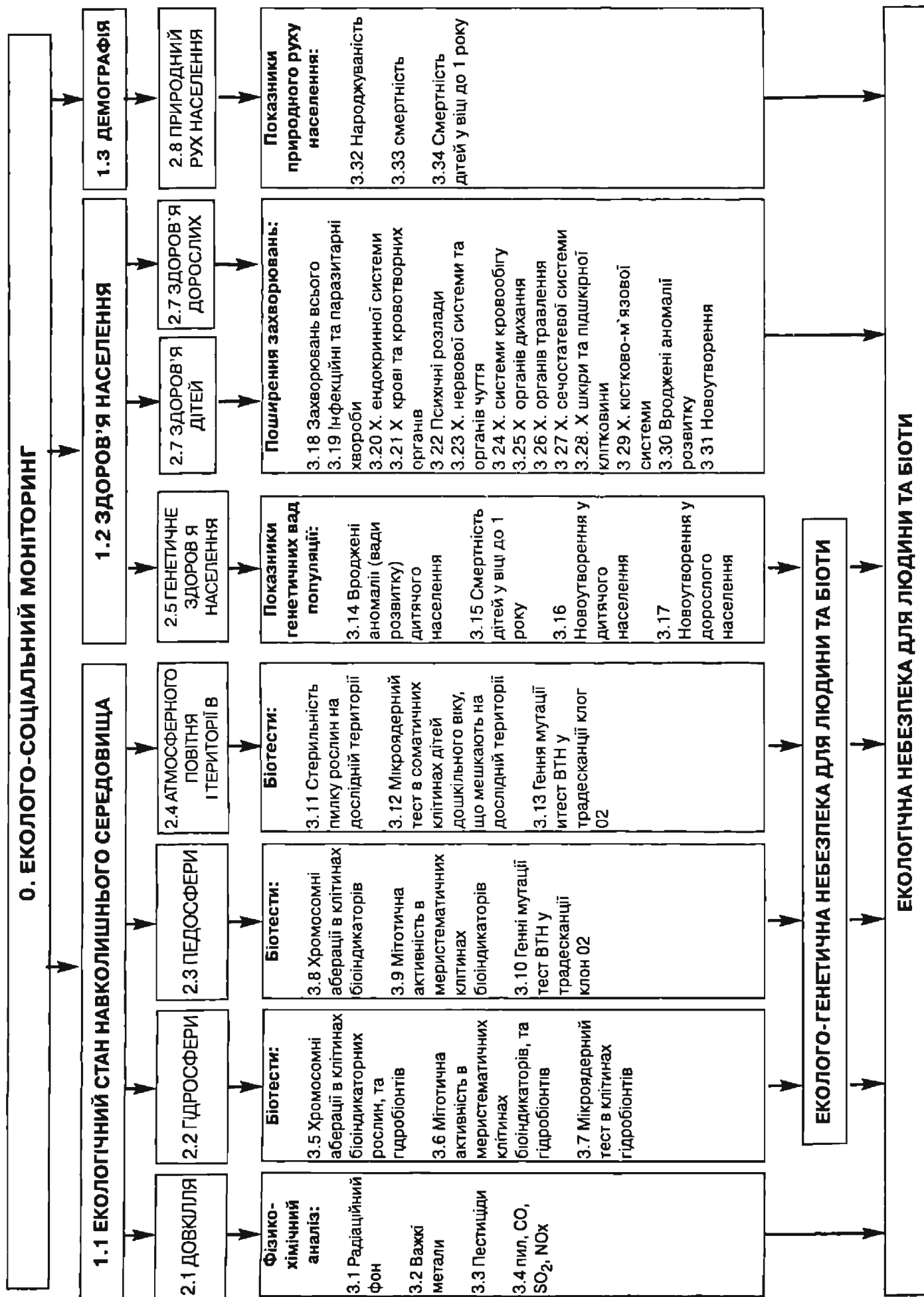
У зв'язку з забрудненням навколишнього середовища і впливом несприятливої екологічної ситуації на здоров'я населення виникла необхідність розроблення інтегральних оцінок, що віддзеркалюють стан довкілля і здоров'я. В наших попередніх роботах обґрунтовувалася необхідність в створенні уніфікованого методичного підходу до таких оцінок і в розробці нових підходів до оцінки стану довкілля за токсико-мутагенним фоном і здоров'я населення.

В роботі пропонується розширена схема комплексного еколого-соціального (медико-екологічного) моніторингу, яка дозволяє оцінити рівень загальної екологічної та еколого-генетичної небезпеки для людини та природи (рис. 1).

Як видно із схеми, верхній (нульовий) структурний рівень показника, що характеризує стан еколого-соціального (або медико-екологічного) блоку системи стійкого еколого-економічного та соціального розвитку території на локальному, регіональному або національному рівнях включає три показника нижчого (першого) рівня які характеризують: здоров'я населення, екологічний стан навколишнього середовища та демографічну ситуацію.

Подальша їх деталізація (другий структурний рівень) представлена показниками, які характеризують здоров'я населення, (фізичне здоров'я дітей

Рисунок 1. Розширена схема еколого-соціального моніторингу (за проф. А.І. Горвою)



і дорослих та генетичне здоров'я), екологічний стан навколишнього середовища (стан атмосфери, гідросфери, педосфери) та природний рух населення.

Третій структурний рівень представляють показники, які складають блоки другого структурного рівня. Так показниками природного руху населення є народжуваність, смертність, смертність дітей у віці до 1 року. Фізичне здоров'я дитячого і дорослого населення характеризують: інфекційні та паразитарні хвороби, хвороби ендокринної системи, крові та кровотворних органів, психічні розлади, хвороби нервової системи та органів чуття, хвороби системи кровообігу, органів дихання, травлення, сечостатевої системи, шкіри та підшкірної клітковини, кістково-м'язової системи, вроджені аномалії розвитку та новоутворення. Показниками генетичних вад популяції є - вроджені аномалії розвитку, новоутворення у дитячого та дорослого населення і смертність дітей у віці до 1 року.

Токсико-мутагенну ситуацію об'єктів довкілля відображають цитогенетичні показники біоіндикаторів. Якість атмосферного повітря характеризує рівень стерильності пилку рослин, що ростуть на дослідній території і мікроядерний тест в соматичних клітинах дітей дошкільного віку, які мешкають на території дослідження.

Якість гідросфери за токсико-мутагенним фоном відображує рівень хромосомних аберацій і мітотичний індекс в клітинах екзогенних біоіндикаторів і мікроядерний тест в клітинах гідробіонтів.

Стан педосфери (ґрунтів) відображають рівні генних, хромосомних мутацій і мітотичний індекс в клітинах

фітоіндикаторів. Стан довкілля також відображають результати фізико-хімічних методів аналізу, які характеризують радіаційний фон, вміст важких металів і пестицидів у ґрунтах та концентрація пилу, CO, SO₂, NO_x в атмосферному повітрі.

Усі показники біоіндикаційного і популяційного блоків після приведення до безрозмірної форми можуть бути з'єднані для визначення інтегральних показників другого, першого та нульового рівнів.

Застосування окремо показників, що характеризують генетичне здоров'я і стан навколишнього середовища за токсико-мутагенним фоном дозволяє отримати показники еколого-генетичної небезпеки для людини та біоти, а показники інтегрального здоров'я і стану довкілля дають можливість отримати інтегральну медико-екологічну (або еколого-соціальну) оцінку найважливішого блоку концепції стійкого еколого-економічного і соціального розвитку держави. Тільки такі підходи в змозі охарактеризувати ефективність будь-якого напрямку розвитку території, встановити еколого-оптимальні нормативи якості довкілля та здоров'я населення, розробити шляхи досягнення цих нормативів, визначити пріоритети при прийнятті вірних управлінських рішень.

Методика розрахунку умовних показників ушкодження здоров'я населення і стану навколишнього середовища.

Всі показники стану здоров'я та довкілля згідно з розробленою нами методикою [4], можна передати в числовій формі. Так, значення показника найнижчого структурного рівня, вираженого в його одиницях виміру, мож-

на перевести в безрозмірну форму за допомогою формули:

$$УПУ_i = \frac{P_{реал} - P_{комф}}{P_{крит} - P_{комф}}, \quad (1)$$

де $УПУ_i$ - i -ий умовний показник ушкодженості біопараметру, спричинений несприятливими умовами довкілля; $P_{комф}$. і $P_{крит}$ - експериментально (або експертно) встановлені значення біопараметра в комфортних та критичних для життєдіяльності організму умовах, відповідно; $P_{реал}$ - реальне значення біопараметра на поточний момент.

Середні умовні показники ушкодженості указаних рівнів обчислювались за формулою:

$$УПУ_j \frac{1}{n} \times \sum_{i=1}^n УПУ_i = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n \left[\frac{|P_{реал} - P_{комф}|}{|P_{крит} - P_{комф}|} \right], \quad (2)$$

де $УПУ_j$ - j -ий усереднений умовний показник ушкодженості стану навколишнього середовища ($i = 1; 2; 3...n$ - номери відповідних вибраних показників, що усереднювалися). Значення всіх УПУ змінюється в діапазоні від нуля ($P_{реал} = P_{комф}$ - сприятливі або комфортні умови) до одиниці ($P_{реал} = P_{крит}$ - небезпечні або критичні умови).

Інтегральний показник, що характеризує стан довкілля за загальним токсико-мутагенним фоном ($ІУПУ_{біоінд.}$ - інтегральний умовний показник ушкодженості тест-систем біоіндикаторів), передбачав паритетність складових та обчислювався за формулою:

$$ІУПУ_{біоінд.} = \frac{1}{m} (УПУ_1 + УПУ_2 + УПУ_3 + \dots + УПУ_m), \quad (3)$$

де $УПУ_1, УПУ_2, УПУ_3, \dots, УПУ_m$ - інтегровані показники біоіндикації якості атмосфери, гідросфери та педосфе-

ри (m = число вибраних тест-показників).

Інтегральний показник, що характеризує загальне здоров'я населення, обчислюється за формулою:

$$ІУПУ_{попул} = 0,4 \cdot ІУПУ_1 + 0,3 \cdot ІУПУ_2 + 0,3 \cdot ІУПУ_3, \quad (4)$$

де $ІУПУ_{попул}$ - інтегральний умовний показник ушкодження загального здоров'я населення;

$ІУПУ_1$ - фізичне здоров'я дітей;

$ІУПУ_2$ - фізичне здоров'я дорослого населення,

$ІУПУ_3$ - генетичне здоров'я населення.

Інтегральний показник, що характеризує природний рух населення обчислюється за формулою:

$$ІУПУ_{дем.} = \frac{1}{m} (УПУ_1 + УПУ_2 + УПУ_3), \quad (5)$$

де $УПУ_1$ - народжуваність;

$УПУ_2$ - смертність;

$УПУ_3$ - смертність дітей у віці до 1 року.

Інтегральний показник, що характеризує загальну екологічну небезпеку (ЕН) для людини та біоти від дії забруднювачів довкілля, обчислюється за формулою:

$$ЕН = 0,6 \cdot ІУПУ_{біоінд.} + 0,4 \cdot ІУПУ_{попул}, \quad (6)$$

де $ЕН$ - інтегральний умовний показник, що характеризує стан соціо-екосистеми;

$ІУПУ_{біоінд.}$ - інтегральний показник стану навколишнього середовища;

$ІУПУ_{попул.}$ - інтегральний показник стану здоров'я населення.

Інтегральний показник, що характеризує генетичну небезпеку (ГН) для людини та біоти від дії мутагенів нав-

колишнього середовища, обчислюється за формулою:

$$ГН = 0,6 \cdot ІУПУ_{біоінд} + 0,4 \cdot ІУПУ_{генет.здор.} \quad (7)$$

де ГН - інтегральний показник, що характеризує генетичну небезпеку;

ІУПУ_{біоінд.} - інтегральний показник стану навколишнього середовища;

ІУПУ_{генет.здор.} - інтегральний показник генетичного здоров'я населення.

Розрахунок показників в умовних одиницях дозволяє провести порівняння і ранжування різних класів захворювання населення, що неможливо зробити у випадку, коли ці показники

при якому можливе їх відновлення після припинення дії негативних факторів. З формули 1 виводяться формули 8 та 9, за якими обчислюються нормативні значення для кожного реального показника при УПУ=0,300:

$$УПП_{норм} = 0,3 \cdot (П_{крит} - П_{комф}) + П_{комф}, \quad (8)$$

$$УПП_{норм} = П_{комф} - 0,3 \cdot (П_{комф} - П_{крит}), \quad (9)$$

Формула 8 використовується при значеннях $П_{крит} > П_{комф}$, а формула 9 - при $П_{комф} > П_{крит}$.

Для оцінки рівня ушкодження здоров'я населення і стану довкілля запропоновано використати єдину уніфіковану шкалу (табл. 2).

Таблиця 2. Шкала оцінки стану здоров'я людини та екологічної ситуації

Діапазон чисельних значень показників ушкодження	Рівень ушкодженості біосистем та здоров'я	Стан біосистем та здоров'я людини	Оцінка екологічної ситуації
0,000 ÷ 0,150	Низький	Сприятливий	Еталонна
0,151 ÷ 0,300	Нижче середнього	Насторожуючий	Задовільна
0,301 ÷ 0,450	Середній	Конфліктний	Незадовільна
0,451 ÷ 0,600	Вище середнього	Загрозливий	Незадовільна
0,601 ÷ 0,750	Високий	Критичний	Катастрофічна
0,751 і вище	Максимальний	Небезпечний	Катастрофічна

представлено в їх природному вимірі, а також ранжувати територію за токсико-мутагенним фоном різних об'єктів довкілля в цілому.

Значення умовних показників ушкодження (УПУ та ІУПУ) змінюється в межах від 0 (комфортні для життєдіяльності умови) до 1 (критичні умови). Нормативні значення ушкоджуваності для всіх біопараметрів, що відповідають умовам стійкого розвитку території, приймають 30% рівень (тобто $УПУ_{норм.} = 0,300$), який знаходиться в межах гомеостазу біосистем та

Запропонована методологія комплексної оцінки якості навколишнього природного середовища та стану здоров'я населення з використанням високочутливих цитогенетичних методів біоіндикації, була апробована на територіях з різним рівнем техногенного навантаження у Дніпропетровській, Донецькій, Львівській областях, АР Крим та інші [5].

Висновки

1. Обґрунтована необхідність використання системи цитогенетичних

методів біоіндикації для визначення стану біоти та людини.

2. Розроблена методологія цитогенетичного моніторингу довкілля та здоров'я людини.

3. Рекомендується широкомасштабне впровадження методології цитогенетичного моніторингу об'єктів навколишнього середовища для визначення рівнів екологічної та екологічно-генетичної небезпеки для людини та біоти на території України.

Перелік літератури

1. *Погосян В.С., Симонян Е.Г., Джигарджян З.М., Арутюнян Р.М.* Оценка генотоксического действия антропогенных факторов на растения в городских условиях // Цитология и генетика. - 1991. - 25, № 1. - С.23-29.
2. *Дуган А.М., Барилляк И.Р., Журков В.С.* Выявление и оценка суммарной мутагенной активности аэрозольной части химических загрязнений атмосферного воздуха некоторых промышленно развитых городов Украины // Цитология и генетика. - 1993. - 27, №4 - С.34-39.
3. *Задачи по достижению здоровья для всех: Европейская политика здравоохранения.* - Копенгаген: ВОЗ. Европейское региональное бюро, 1993 - 322 с.
4. *Горова А. И., Бобырь Л. Ф., Скворцова Т.В., Дигурко В. М., Климкина И. И.* Методологические аспекты оценки мутагенного фона и генетического риска для человека и биоты от действия мутагенных экологических факторов // Цитология и генетика. - 1996. - 30, №6. - С. 78-86.
5. *Пивняк Г. Г., Горова А. И., Павличенко А. В.* Цитогенетический мониторинг состояния окружающей среды и здоровья населения на территориях, нарушенных деятельностью горной промышленности // Горный информационно-аналитический бюллетень. - 2004. - №9. С. 214-219.

Представлено Л. Л. Лукаш
Надійшла 21.02.2005 р.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

*А. И. Горова, Т. В. Скворцова, И. И. Климкина,
А. В. Павличенко, Ю. В. Бучавый*

Национальный горный университет,
кафедра экологии,
49027, г. Днепропетровск, пр. К. Маркса 19,
тел.: (0562) 45-85-16,
e-mail: gorovaa@nmu.org.ua

Здоровье человека обусловлено как внутренними наследственными факторами, так и внешними - состоянием окружающей среды. Предлагается комплексный подход к оценке как качества природной среды, так и состояния здоровья населения с использованием высокочувствительных цитогенетических методов биоиндикации. Рекомендуются широкомасштабное внедрение методов цитогенетического мониторинга объектов окружающей среды на территории Украины.

Ключевые слова: цитогенетический мониторинг, здоровье человека, наследственные факторы.

CYTOGENETICAL MONITORING OF ENVIRONMENT AND HUMAN HEALTH

*A. I. Gorova, T. V. Skvortsova, I. I. Klimkina,
A. V. Pavlichenko, Yu. V. Buchaviy*

National mining university, faculty of an ecology,
49027, Dnepropetrovsk, Marcs str., 19
tel.: (0562) 45-85-16,
e-mail: gorovaa@nmu.org.ua

Health of human being is conditioned by internal hereditary factors and external state of the environment. It is proposed a complex approach for the estimation of environment quality and the state of population with the application of highly sensitive cytogenetical methods of bioindication. Wide scale of the introduction of cytogenetical monitoring of the objects of the environment on the territory of Ukraine has been recommended.

Key words: cytogenetical monitoring, health of the man, heritable factors.

УДК 575.164:581.461:582.683.2

СОВМЕШНОЕ ВЛИЯНИЕ МУТАНТНЫХ АЛЛЕЛЕЙ *ap1-1* И *bp-1* НА АРХИТЕКТУРУ СОЦВЕТИЯ АРАБИДОПСИСА (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)

И. Д. СОКОЛОВ, С. Г. ХАБЛАК, Е. И. СЫЧ, Л. И. СИГИДИНЕНКО
Луганский национальный аграрный университет,
91008, г. Луганск, ЛНАУ, кафедра биологии растений
e-mail: sunx@lnau.lg.ua, тел. 8-(0642)-96-74-78

Рассмотрены индивидуальные и совместные эффекты генов *AP1* и *BP* на архитектуру соцветий рекомбинантной димутантной линии *ap1-1, bp-1*. Обсуждаются возможные пути генетического конструирования хозяйственно ценной архитектуры соцветий культурных растений.

Ключевые слова: соцветие, архитектура, конструирование, аллель, линия *ap1-1, bp-1*

Введение. На определенном этапе онтогенеза на одном и том же растении *A. thaliana* дикого типа можно одновременно видеть бутоны, цветки и плоды в разной степени зрелости; соцветия переходят в соплодия. Совокупность плодов несет информацию о строении соцветий, поэтому в дальнейшем, говоря об архитектуре соцветия, мы будем иметь в виду не только собственно соцветия, но и соплодия.

С использованием радиационного мутагенеза из географической расы *Landsberg*, называемой также экотипом, выделена линия *Landsberg erecta* [1]. Эту линию сокращенно называют *Ler*, *Ler-O*, *er* или *er-1*. Аллель *er-1* (хромосома 2, локус 44) детерминирует формирование укороченного, жесткого, обычно неполегающего эректоидного стебля [1]. Расстояния между цветками и плодами (междоузлия), как и длины цветоножек и плодоножек тоже укорочены, поэтому архитектура соцветия у линии *Ler* отличается от таковой у линии *Landsberg* - соцветие более плотное [2]. На генетической основе *Ler* методом индуцированного мутагенеза получены многочисленные мутантные линии, в том числе и такие, у которых изменено строение соцветий. К ним относятся *ap1-1* (хромосома 1, локус 103) и *bp-1* (4-10) [1].

Исследованию архитектуры соцветий линий *ap1-1* и *bp-1* посвящено ряд работ [2,3,4,5], однако совместное действие аллелей *ap1-1* и *bp-1* на архитектуру соцветий специально не изучалось. Между тем такого ряда исследования важны не только для решения задач функ-

© И. Д. СОКОЛОВ, С. Г. ХАБЛАК, Е. И. СЫЧ, Л. И. СИГИДИНЕНКО, 2005

циональной геномики растений, то есть выяснения на всех уровнях организации живого функций всех генов в их взаимодействии [6,7], но имеют и практический интерес. Они позволяют наметить возможные пути генетического конструирования хозяйственно ценной архитектуры соцветий культурных растений [2].

Материалы и методы

Использовали гомозиготную линию *Landsberg erecta*, полученные на ее генетической основе мутантные линии *ap1-1* (*apetala* = без лепестков) и *bp-1* (*brevipedicellus* = короткие цветоножки) и созданную в Луганском НАУ (ЛНАУ) димутантную линию, объединяющую в одном генотипе в гомозиготном состоянии аллели *ap1-1* и *bp-1* (линия *ap1-1, bp-1*) [8].

Индивидуальные и совместные эффекты генов *AP1* и *BP* на архитектуру соцветий оценивали путем сравнения соцветий рекомбинантной димутантной линии *ap1-1, bp-1* с мономутантными линиями *ap1-1* и *bp-1*, а также с базовой (исходной) линией *Ler* подобно тому, как это сделано по другим парам генов в работах [2,3,9,10].

Растения выращивали в лаборатории светокультуры кафедры биологии растений ЛНАУ по методике кафедры [11]. Изображения получали как с помощью обычного фотоаппарата, так и цифровой трехмегапиксельной камеры Bend DC 3410.

В момент, когда один из стручков растения уже полностью созрел и раскрылся, оценивали степень компактности соцветия. Для этого цветонос срезали, плоды отделяли от плодоножек и определяли массу плодов и массу остальной части соцветия. За

показатель компактности соцветия принимали отношение массы плодов к массе остальной части соцветия (индекс С). Чем больше этот индекс, тем компактнее соцветие, и наоборот.

Результаты и обсуждение

Соцветием (*inflorescentia*) со времен Линнея К. считается цветорасположение как способ прикрепления цветков к цветоносу растения [12]. Соплодие (*infructescentia*) - совокупность зрелых плодов одного соцветия, четко обособленного от вегетативной части побега [13]. На определенном этапе онтогенеза на одном и том же растении *A. thaliana* дикого типа можно одновременно видеть бутоны, цветки и плоды разной степени зрелости; соцветия переходят в соплодия. Обычно понятие "соцветие" используют в широком смысле, относя к нему и собственно соцветие и соплодие. Так поступаем и мы.

В линии *Ler* соцветия принципиально не отличаются от соцветий дикого типа, хотя они и более плотные [4]. С феноменологической точки зрения в этой линии соцветия представляют собой рыхлые, верхоцветные, безлистные, обычно многоцветковые, иногда сложные кисти (рис. 1, а; [4]).

Соцветия линии *bp-1* внешне сильно отличаются от таковых *Ler* (рис. 1, б). Это связано как с тем, что у *bp-1* междоузлия, цветоножки и плодоножки сильно укорочены, так и с поворотом плодов вниз (рис. 1, б-в). Тем не менее, в рамках феноменологического подхода соцветие мутантной линии *bp-1* можно считать простой кистью, но кистью плотной, приближающейся к простому колосу.

Соцветие растений гомозиготной линии *ap1-1* представляет собой

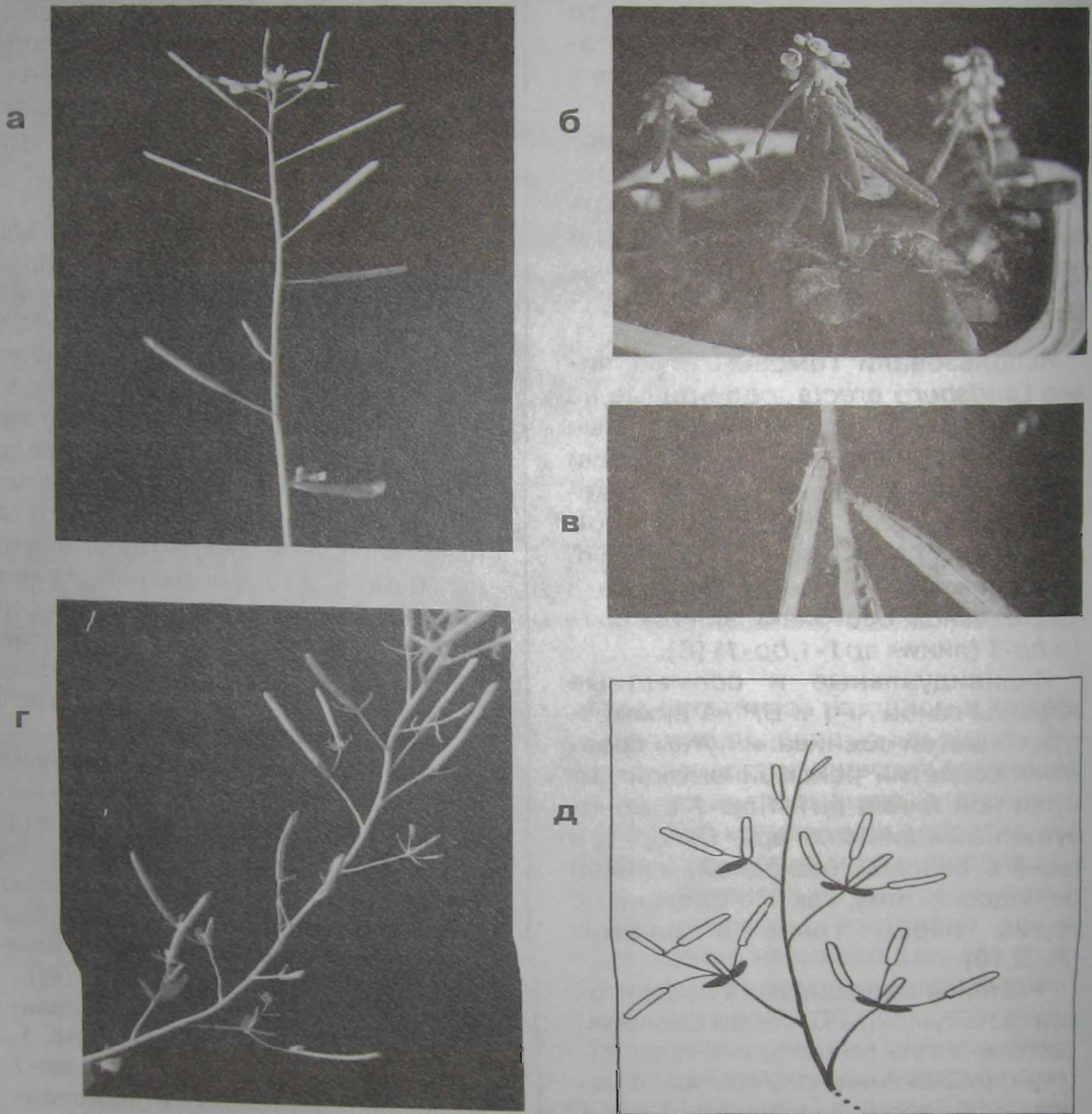


Рисунок 1. Исходные линии *A. thaliana*

а - верхняя часть растения экотипа *Landsberg erecta*

б - растения мюмутантной линии *bp-1*, полученной на генетической основе *Landsberg erecta*

в - соединение плода с плодоножкой у линии *bp-1*

г - верхняя часть растения мюмутантной линии *ap1-1*, полученной на генетической основе *Landsberg erecta*

д - схематическое изображение фрагмента соплодия растения *ap1-1*

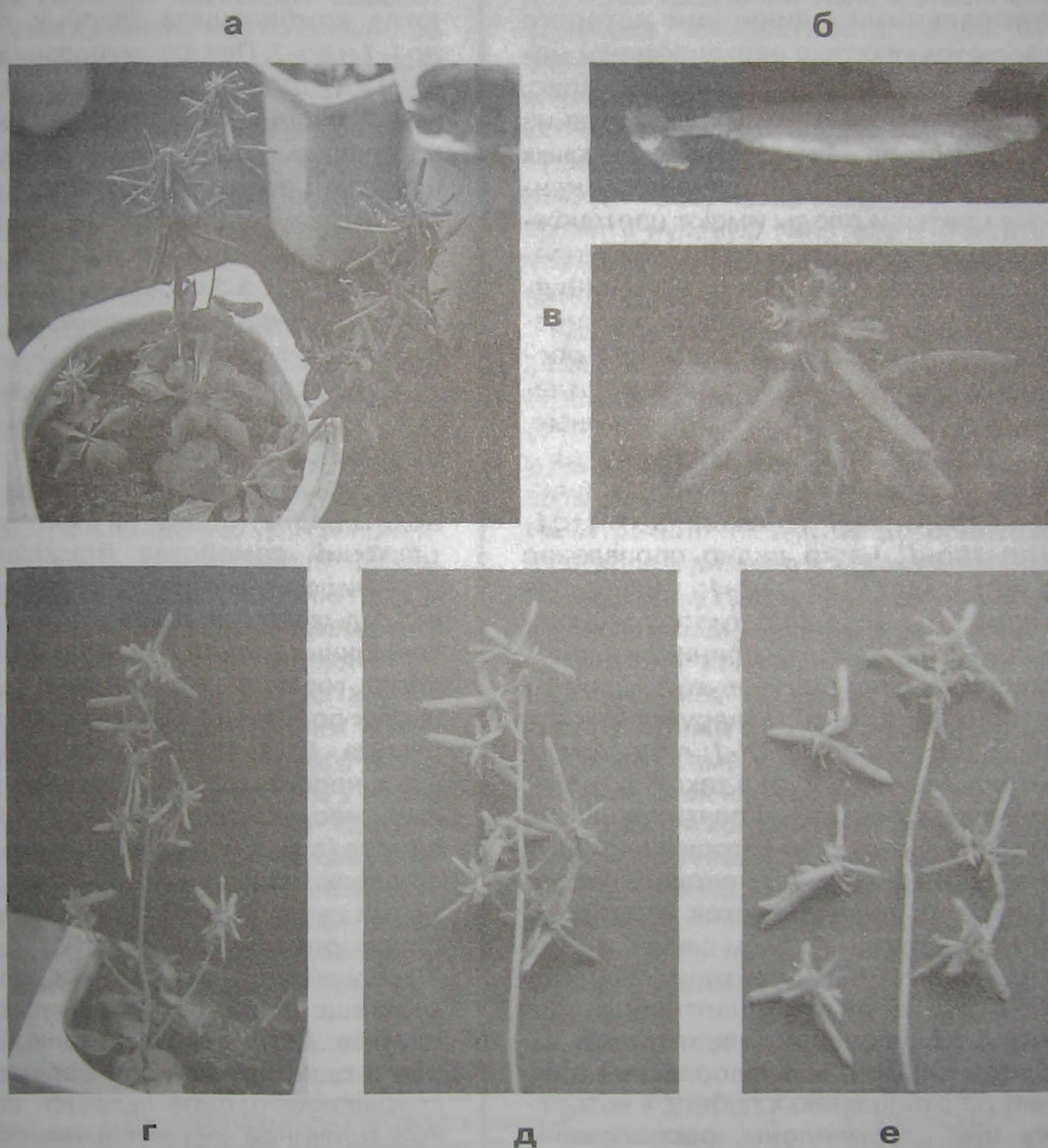


Рисунок 2. Рекомбинантная линия *ap1-1*, *bp-1*

а - общий вид растений линии *ap1-1*, *bp-1*

б - прикрепление молодого плода к стеблю за счет короткой плодоножки

в - верхушка центральной оси с повернутыми вниз плодами

г - растения линии *ap1-1*, *bp-1* с плодами

д - центральное соцветие

е - центральное соцветие, расчлененное для удобства изучения на несколько частей

сложный верхцветник с несколькими уровнями ветвления, структурными флоральными единицами которого являются простые верхцветники монохазии, дихазии, плейохазии) (рис. 1, г-д). Цветки и формирующиеся из них плоды на верхушках цветоносных побегов сидячие, а ниже расположенные цветки и плоды имеют цветоножки и плодоножки (рис. 1, г-д). Соцветие может быть названо тирсом (*thyrsus* - тирс, метелка, пирамидка, гроздь) [14]. В некоторых соцветиях, особенно в их верхней части, видны отдельные, косо вверх направленные плоды с плодоножками (рис. 1, г-д).

В димутантной рекомбинантной линии *ap1-1, bp-1* (генотип *ap1-1ap1-1bp-1bp-1*) четко видно проявление действия аллели *ap1-1*: цветки без лепестков; соцветие тирс, структурными флоральными единицами которого являются простые верхцветники (рис. 2, а, в-е). Обнаруживается и экспрессия аллели *bp-1*. плодоножки укорочены (рис. 2, б) в такой степени, что стручки выглядят почти сидячими (рис. 2, а, в-е). У некоторых растений линии *ap1-1, bp-1* в верхней части цветоноса формируются отдельные цветки и плоды. В этом случае видно, что, как и в мотомутантной линии *bp-1*, стручки рекомбинантной линии *ap1-1, bp-1* повернуты вниз (рис. 2, в). Плоды структурных флоральных единиц по отношению к побегу, к которому они прикреплены, расположены примерно под прямым углом (рис. 2, г-е). Дополнительные соцветия, формирующие в пазухах стеблевых и розеточных листьев, устроены проще, чем основное соцветие (рис. 2, г). Они выглядят обычно как отдельные флоральные единицы главного соцветия.

Особенности строения соцветий димутантной линии *ap1-1, bp-1* являются комбинацией таковых линий *ap1-1* и *bp-1*. При формировании соцветий растений *ap1-1, bp-1* аллели *ap1-1* и *bp-1* проявляются преимущественно независимо. С формальной точки зрения о некотором взаимодействии генов можно говорить, лишь имея в виду расположение цветков и плодов в флоральных единицах (не косо вниз направленные, как у *bp-1*, а направленные вбок).

Приведенные здесь результаты исследований позволяют наметить возможные пути генетического конструирования хозяйственно ценной архитектуры соцветий культурных растений семейства *Brassicaceae*. Ряд видов семейства *Brassicaceae* возделывают на семена в качестве масличных культур (рапс - *Brassica napus*, горчица сарептская - *B. juncea*, рыжик посевной - *Camelina sativa*, сурепица - *B. rapa*). Одним из существенных недостатков этих культур является неодновременное созревание плодов (в акропетальной, то есть снизу вверх, последовательности). В то время как в нижней части цветоноса плоды уже созрели и требуют уборки, в средней части они зеленые, а в верхней еще происходит формирование цветков. При механизированной уборке в один прием неодновременное созревание плодов является основной причиной значительных потерь урожая.

В этой связи создание сортов с более плотным расположением, а значит и с более дружным созреванием плодов у культурных масличных растений семейства *Brassicaceae* обещает значительное повышение их урожайности. Вряд ли случайно то,

что наибольшие площади среди культурных растений занимают высокопродуктивные зерновые из семейства *Poaceae* (Злаки), плоды которых располагаются в колосьях и початках весьма плотно и созревают в пределах соцветий практически одновременно. Крайний случай - кукуруза (*Zea mays L.*) наиболее продуктивная зерновая культура с плотно расположенными в початках плодами. Компактные соцветия обеспечивают более целесообразное распределение образующихся при фотосинтезе продуктов, а именно их использование преимущественно на образование плодов и семян, а не стеблей и плодоножек. Это приводит к повышению урожайности.

Показатель компактности соцветий, представляющий собой отношение массы плодов, оцененный в момент растрескивания хотя бы одного зрелого стручка, к остальной части соцветия (С), у линии *ap1-1* достоверно меньше такового у *Ler* (табл.). Напротив, значение С у линии *bp-1* значимо и намного больше (табл.). Аллель *ap1-1* уменьшает значение показателя компактности соцветий, тогда как *bp-1* его увеличивает. Значение С у димутантной линии *ap1-1, bp-1* больше, чем у *Ler* (табл.).

При аддитивном действии генов *AP1* и *BP* значения количественного признака "компактность соцветий" ожидается равным 4.34. Наблюдаемое значение равно 2.76 (табл.). Эпистатическое отклонение, равное -1.58 ± 0.95 , по упрощенному t-критерию ($t = 1.66$) незначимо [15]. Можно принять нулевую гипотезу и считать, что на этот признак гены *AP1* и *BP* действуют аддитивно

Драгавцев В. А. [16] выделяет семь физиолого-генетических систем, с помощью которых селекционер генетически улучшает продуктивность, урожайность, устойчивость и качество растений. Первая система - система аттракции продуктов фотосинтеза из стебля и листьев в колос (у злаков) или корзинку (у подсолнечника и других *Asteraceae*). Используемый нами показатель компактности соцветий арабидопсиса является характеристикой системы аттракции, пригодной для видов семейства *Brassicaceae*.

Мутантная аллель *bp-1* как сама по себе, так и в комбинации с *ap1-1*, может использоваться в селекционных программах по созданию сортов масличных растений семейства *Brassicaceae* с более технологичной архитектурой соцветий.

Таблица. Сравнение показателей компактности соцветий (С) исследованных линий арабидопсиса

Линии	Отношение массы стручков к массе остальной части соцветия (С)	Разность	t - критерий Стьюдента
<i>ler</i>	1,50±0,08	-	-
<i>ap1-1</i>	1,03±0,10	-0,47±0,13	3,64**
<i>bp-1</i>	4,81±0,76	3,31±0,76	4,33***
<i>ap1-1, bp-1</i>	2,76±0,56	1,26±0,57	2,22*

Ряд исследователей говорят о начале новой "зеленой революции", связанной с использованием трансгенных сортов, в получении которых все большее значение отводится "растительной дрозофиле" - *A. thaliana* [6]. Многие десятки генов *A. thaliana*, в том числе и исследованные в настоящей работе, выделены, клонируются, вводятся в другие виды растений. В статье Жученко А.А. [17] подробно рассмотрены ограничения трансгенеза и возможные негативные последствия широкого использования трансгенных сортов, полученных при переносе бактериальных генов в культурные растения. В этой связи следует отметить преимущества арабидопсиса как донора генов в практической селекции.

Во-первых, плейотропные эффекты микробных генов, которые могут оказаться вредными, выявляются уже после трансгенеза. В отличие от этого такие эффекты генов арабидопсиса могут быть заранее обнаружены. Уже потом, когда в опытах на *A. thaliana* выяснится, что интересующий селекционера аллель не уменьшает хозяйственно ценные признаки до неприемлемого уровня, принимается решение о его переносе в культурное растение. Настоящая работа как раз и посвящена изучению плейотропного действия аллелей *ap1-1* и *bp-1* на строение и компактность соцветий. Высокая степень синтении геномов арабидопсиса и других видов растений семейства *Brassicaceae* [6] залог того, что переносимые из *A. thaliana* гены будут обнаруживать сходные эффекты и у видов - реципиентов. Во-вторых, техника трансгенеза в семействе *Brassicaceae* хорошо разработана, и добиться нужной экспрессии пе-

ренесенных из *A. thaliana* генов легче, чем в случае бактериальных генов. В-третьих, при переносе генов арабидопсиса в культурные растения не возникает тревоги по поводу возможных негативных экологических и медико-биологических последствий трансгенеза, поскольку *A. thaliana* - съедобное растение, используемое для салатов и шпинатов [18].

Авторы выражают благодарность сотрудникам NASC за предоставление для исследований семян линий *Ler*, *ap1-1* и *bp-1*.

Выводы

1. В исходной линии *Landsberg erecta (Ler)* с феноменологической точки зрения соцветия представляют собой рыхлые, верхоцветные, безлистные, обычно многоцветковые, иногда сложные кисти.

2. Соцветие полученной на генетической основе *Ler* мутантной линии *bp-1* можно считать простой кистью, но кистью плотной, приближающейся к простому колосу.

3. Соцветием мутантной линии *ap1-1* является тирс, структурные флоральные единицы которого простые верхоцветники (монохазии, дихазии, плейохазии).

4. Особенности архитектуры соцветий димутантной рекомбинантной линии *ap1-1, bp-1* являются комбинацией таковых линий *ap1-1* и *bp-1*. Соцветие тирс (проявление *ap1-1*), но цветки и плоды почти сидячие (проявление *bp-1*).

5. Показатель компактности соцветий в линии *ap1-1* меньше, чем в базовой линии *Ler*, тогда как этот показатель у *bp-1* и *ap1-1, bp-1* больше.

6. Мутантная аллель *bp-1* как сама по себе, так и в комбинации с *ap1-*

1, может использоваться в селекционных программах по созданию сортов масличных растений семейства *Brassicaceae* с более технологичной архитектурой соцветий.

Список литературы

1. Seed List. The Nottingham Arabidopsis Stock Centre. - Nottingham: The University of Nottingham, 1994. - 147 p.
2. Douglas S. J., Chuch G., Dengler R. E. et al. *KNAT1* and *ERECTA* regulate inflorescence architecture in *Arabidopsis* // *The Plant Cell*. - 2002. - Vol. 14. - P. 547-558.
3. Liljegren S. J., Gustafson-Broun C., Pinyonic A. et al. Interaction among *APETALA1*, *LEAFY* and *TERMINAL FLOWER1* specify meristem fate // *The Plant Cell*. - 1999. - Vol. 11. - P. 1007-1018.
4. Харченко В. Е., Соколов И. Д., Пилавов Г. Ш. и др. Строение соцветий у экотипа *Landsberg* и мутантных линий *Landsberg erecta*, *вр-1* и *pt* арабидопсиса Таля (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) // Збірн. наук. праць Луганського НАУ. Сер. біол. наук. - 2005. - №52 (75). - С. 36-41.
5. Соколов И. Д., Сова Т. В., Сигидиненко Л. И. Строение соцветий гомозиготной линии *ар1-1* арабидопсиса Таля (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) // Збірн. наук. праць Луганського НАУ. Сер. біол. наук. - 2005. - №48 (71). - С. 78-82.
6. Ежова Г. А., Лебедева О. В., Огаркова О. А. и др. *Arabidopsis thaliana* - модельный объект генетики растений. - М.: МАКС Пресс, 2003. - 220 с.
7. Кайку М. Візії: як наука змінить ХХІ сторіччя. Перекл. з англ. - Львів: Літопис, 2004. - 544 с.
8. Соколов И. Д., Шелихов П. В., Сигидиненко Л. И. и др. Иллюстрированный каталог генетической коллекции арабидопсиса Луганского НАУ. - Луганск: Изд-во ЛНАУ, 2004. - 36 с.
9. Ежова Т. А., Пенин А. А. Новый ген *ВРАСТЕА (BRA)*, контролирующий формирование открытого эбрактеозного соцветия у *Arabidopsis thaliana* // *Генетика*. - 2001. - Т. 37. - №7. - С. 935-938.
10. Пенин А. А., Чуб В. В., Ежова Т. А. Правила формирования терминального цветка // *Онтогенез*. - 2005. - Т. 36. - №2. - С. 90-95.
11. Соколов И. Д., Шелихов П. В., Соколова Т. И. та інш. *Генетика. Практикум* // Вид. 4-е, виправлено і доп. - К.: Арістей, 2003. - 176 с.
12. Линней К. *Философия ботаники*. - М.: Наука, 1989. - 456 с.
13. Гиляров М. С. и др. *Биологический энциклопедический словарь*. - М.: "Советская энциклопедия", 1989. - 864 с.
14. Петунников А. *Свод ботанических терминов, встречающихся в русской ботанической литературе*. - С.- Петербург: Ученый комитет главн. управл. землеустройства и земледелия, 1912. - 161 с.
15. Сыч Е. И. Новый метод оценки взаимодействия генов в количественной генетике растений // Збірн. наук. праць Луганського НАУ. Сер. біол. наук. - 2003. - №22 (34). - С. 65-71.
16. Драгавцев В. А. К проблеме генетического анализа полигенных количественных признаков растений. - С.- Петербург: ВИР, 2003. - 34 с.
17. Жученко А. А. Роль генетической инженерии в адаптивной системе селекции растений // *Сельскохозяйственная биология* - 2003. - №1. - С. 1-34.
18. *Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование; Семейства Раеопіасеае - Thymelaeaceae*. - Л.: Наука, 1985. - 336 с.

Представлено В. А. Кунахом
Надійшла 10.05.2005 р.

СУМІСНИЙ ВПЛИВ МУТАНТНИХ АЛЛЕЛЕЙ *ар1-1* ТА *вр-1* НА АРХІТЕКТУРУ СУЦВІТТЯ АРАБІДОПСИСУ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)

І. Д. Соколов, С. Г. Хаблак, Е. І. Сич,
Л. І. Сигідіненко

Луганський національний аграрний університет,
91008, м. Луганськ, ЛНАУ,
кафедра біології рослин
e-mail: sunx@lnau.lg.ua, тел. 8-(0642)-96-74-78

Розглянуті індивідуальні і сумісні ефекти генів *АР1* та *ВР* на архітектуру суцвіть рекомбінантної димутантної лінії *ар1-1,вр-1*. Обговорюються можливі шляхи генетичного конструювання господарсько цінної архітектури суцвіть культурних рослин.

Ключові слова: суцвіття, архітектура, конструювання, алель, лінія *ap1-1, bp-1*.

JOINT INFLUENCE MUTANT ALLELES *ap1-1* AND *bp-1* ON INFLORESCENCE ARCHITECTURE *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH

I. D. Sokolov, C. G. Hablak, E. I. Sysh, L. I. Sigidinenko

Lugansk National Agrarian University,
91008, Lugansk, LNAU, faculty of plant biology
e-mail: sunx@lnau.lg.ua,
tel. 8-(0642)-96-74-78

Individual and joint effects of genes *AP1* and *BP* on inflorescences architecture recombinant dimutant lines *ap1-1, bp-1* are considered. Possible ways of genetic designing of economic valuable inflorescences architecture of cultural plants are discussed.

Key words: inflorescence, architecture, designing, allele, line *ap1-1, bp-1*.

УДК: 575.224.42, 577.11.112

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМУТАГЕННОЇ ДІЇ ЛЕКТИНУ СУЦВІТЬ БУЗИНИ З ВИКОРИСТАННЯМ *rec* - МУТАНТІВ *Bacillus subtilis*

І. С. КАРПОВА, Н. В. КОРЕЦЬКА

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
03143, м. Київ, вул. Акад. Заболотного 150

Виділені дві молекулярні форми лектину суцвіть *Sambucus nigra*, одна з яких має негативний, а інша - позитивний заряд, та встановлена їх різна здатність до протекторної відносно МННГ та антимуtagenної відносно іонів Ni(II) дії. Встановлено, що антимуtagenна дія препаратів лектину залежала від генотипу штамів *Bacillus subtilis*, котрі мали різні пошкодження системи репарації. У разі репаративної системи дикого типу антимуtagenні властивості проявили обидві форми лектину; у мутантів *recF18* та *add-5* - тільки кисла форма, а мутант за геном *recP* виявився нечутливим до антимуtagenного впливу обох форм. Висловлюється припущення, що протекторна та антимуtagenна дія лектинів суцвіть бузини залежить від структури молекули білку і опосередкована репаративною системою.

Ключові слова: антимуtagenез, лектини, *Sambucus nigra*, мутанти *Bacillus subtilis*, репарація

Вступ. Серед основних шляхів дії антимуtagenів, а саме запобігання проникненню мутагена в клітину; інгібування його біотрансформації в мутаген прямої дії; зменшення можливості його взаємодії з ДНК; вплив на ефективність репарації пошкоджень ДНК, останній варіант вважається ключовим [1]. В зв'язку з цим актуальним є пошук серед біологічно активних речовин таких, що мають репарогенні властивості і могли б знайти практичне застосування з метою захисту геному від генотоксичних та мутагенних впливів шкідливих факторів довкілля. Нашу увагу привернула група вуглеводзв'язувальних білків-лектинів, вперше виділених з рослин (стара назва фітогемаглютиніни), а останнім часом знайдених в організмі вищих тварин та людини, де вони приймають участь в регуляції багатьох фізіологічних процесів, зокрема гаметогенезу та запліднення, міграції лейкоцитів, секреції цитокинів, апоптозу тощо [2]. Раніше на модельному об'єкті *Bacillus subtilis* нами були розроблені підходи до вивчення впливу лектинів на спонтанний та індукований мутагенез. Дослідження антимуtagenної дії класичного

лектину РНА з квасолі звичайної (*Phaseolus vulgaris*) та його ізоформ виявило різну здатність останніх модулювати частоту спонтанних та індукованих іонами Ni(II) реверсій [3,4]. Для іншого лектину, вперше виділеного нами з суцвіть бузини чорної (*Sambucus nigra*) було показано модулюючий вплив на спонтанний та індукований алкілюючим агентом мутаційний процес у соматичних клітинах ссавців *in vitro*, який оцінювали за частотою прямих мутацій в локусі *hprt*. Було помічено, що інтактний білок збільшував, а його окремі субодиниці (30кДа та 33кДа) зменшували частоту мутантів нижче спонтанного рівня [5]. Лектини кори та плодів бузини чорної описані в літературі і віднесені до білків типу RIP-2, де одна субодиниця є лектином, а друга має глікозидазну активність. До цього ж класу відноситься лектин омели білої (*Viscum album*) - один з кращих протипухлинних засобів альтернативної медицини [6]. Широке застосування саме суцвіть бузини чорної як лікарської сировини показує, що вона містить багато різних біологічно активних речовин, необхідних для нормалізації функцій організму людини, серед яких лектини практично не досліджені.

Звідси витікає мета даної роботи - дослідження антимутагенної дії лектинів суцвіть бузини чорної як потенційних репарогенів з використанням спектру мутантів *B. subtilis*, що мають дефекти в основних ланках системи репарації/рекомбінації.

Матеріали і методи

В роботі була використана велика колекція мутантів *B. subtilis* з Всесвітнього музею культур бацил [7], одержаних від професора А.А. Про-

зорова, Інститут загальної генетики (ІОГен), Москва, Росія. Характеристики кожного штаму представлені в таблиці 1.

Антимутагенний вплив лектинів досліджували відносно трьох мутагенів, що мають різні механізми дії. Першим мутагенним чинником слугували іони Ni(II) у складі розчинної солі NiCl₂ (Україна), генотоксичну, мутагенну та канцерогенну активність яких пов'язують з ініціацією каскаду вільнорадикальних реакцій, що призводять до одноланцюгових розривів ДНК [8]. Іншим мутагеном був МННГ (N-метил-N'-нітрозогуанідин), для якого відома також і канцерогенна дія (люб'язно наданий доктором Лукаш Л.Л.). Мутації, індуковані МННГ, відбуваються головним чином у точці реплікації ДНК, де утворюються метильовані основи (O⁶-метилгуанін і O⁴-метилтимін), що призводить до неправильного спарювання і заміни основ. В якості мутагену також використовувався антибіотик мітоміцин С (препарат фірми "Sigma", США), котрий вважається радіоміметиком, що утворює ковалентні зшивки між комплементарними нитками ДНК та блокує процес реплікації.

Лектини суцвіть бузини чорної екстрагували водно-сольового розчинном та частково очищали за модифікованою нами методикою електрофокусування [9]. Процес проходить в камері, що розділена перегородками на 21 секцію, в яких під тривалою дією електричного поля (U=220v) білки концентруються відповідно до їх ізоелектричної точки pI. Матеріал кожної секції перевіряли на лектинову активність в серії двократних розведень в імунологічному планшеті за загальноприйнятою методикою [10]. Мірою лектинової активності слугувала най-

Таблиця 1. Чутливість мутантів *B.subtilis* до різних мутагенів

Назва штаму	Генотип	Характеристика мутанту	Чутливість до мутагенів		
			МННГ (0,02 мМ)	Ni(II) (0,05М)	MitC (0,03М)
SB25	<i>rec⁺ trpC2 hisH</i>	непошкоджена система репарації	-	-	-
BD170	<i>rec⁺thr5 trpC2</i>	непошкоджена система репарації	-	-	-
PB1663	<i>recH342 his42 trpC2</i>	підвищена температурочутливість, знижена активність АТФ-залежної дезоксирибонуклеази	-	+++	++
149TH	<i>recP149 trpC2 hisH</i>	зниження плазмідної та хромосомної трансформації та трансдукції чутливість до УФ., підвищена частота спонтанного мутагенезу по ряду локусів	+++	++	+++
BD193	<i>recB3 thr5 trpC2</i>	зниження плазмідної та хромосомної трансформації та трансдукції, чутливість до метилметансульфонату та до X-променів знижена частота трансдукції під дією ДНК фагу SPP1	+++	-	+
BD194	<i>recA1 thr5 trpC2</i>	зниження плазмідної та хромосомної трансформації та трансдукції, чутливість до метилметансульфонату, послаблена індукція SOS-репарації, порушена індукуюча система рестрикції-модифікації	-	++	++
BD237	<i>recA8 thr5 trpC2</i>	-//-	-	++	++
BD241	<i>recL16 thr5 trpC2</i>	порушені процеси трансдукції, ослаблені процеси постреплікативної репарації	-	++	+
BD246	<i>recM13 thr5 trpC2</i>	-//-	-	+	+
GSY1618	<i>recF18 trpC2 metB4</i>	зниження плазмідної та хромосомної трансформації та трансдукції, чутливість до метилметансульфонату та до X-променів	-	+++	+
VUB221	<i>recF15 novA1 trpC2 thr5</i>	-//-	-	++	+
PB1640	<i>recG40 aroB2 hisH2 trpC2 tyrA1</i>	зниження плазмідної та хромосомної трансформації та трансдукції, не впливає на ефективність гомологічної трансдукції фагом PBS1, порушені процеси репарації	-	++	+
GSY2258	<i>add-5 hisH2 metB5</i>	знижена активність АТФ-залежної ДНКаз	-	++	++
BD224	<i>recE4 thr5 trpC2</i>	-//-	-	++	++

- зона інгібування росту відсутня; + діаметр зони інгібування росту < 10 мм;
++ діаметр зони інгібування росту 10 - 20 мм; +++ діаметр зони інгібування росту > 20 мм

менша концентрація, здатна аглютинувати нативні еритроцити людини. Чистоту препаратів контролювали за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі в денатуруючих умовах за Леммлі [11].

Методичною основою для визначення протекторного та антимурагенного впливу лектинів слугував класичний скринінговий гес-тест - аналог теста Еймса, де використовується висока чутливість мутантів *B. subtilis*, дефектних за системою рекомбінації та репарації, до пошкоджуючих впливів [12].

Мутанти *B. subtilis* вирощували протягом 18 год на поверхні 3%-го скошеного триптозного агару ("Difco", США) при температурі 37°C. Культури змивали буфером Спіцайзена [13], стандартизували за показниками нефелометра (КФК-2) при λ 440 нм шляхом розведення її до оптичної густини (ОГ), що відповідає титру $1 \cdot 10^8$. Лектиновмістні фракції після діалізу проти забуференого фізіологічного розчину (рН 7,2) були поділені на порції по 100 мкл та зберігалися при - 18°C. В день досліду їх розморожували і з'єднували з рівним об'ємом стандартизованої бактерійної культури в поліпропиленових пробірках з кришками, після чого змішували 30 секунд на струшувачі типу Vortex. В контроль замість лектину додавали відповідний об'єм 0,15M NaCl. Реакційну суміш інкубували 30 хв при 37°C і висівали по 100 мкл на чашки Петрі з відповідним агаризованим середовищем такого складу: 200 мл розплавленого 3%-го агару (ПРИМОРРИБПРОМ, Росія), 100 мл амінопептиду (С.-Петербург, Росія) та 100 мл концентрованого буфера Спіцайзена (x4). Свіжі розчини мутагенів у воді в ефективних концентраціях, які підбирали емпірично, наносили кра-

пельно самплером по 10 мкл на поверхню агару з щойно засіяною бактерійною культурою. Інкубували при 37°C 24 години та визначали діаметри зон інгібування росту за допомогою мікрометра.

Показником генотоксичної дії є величина зони повного, а цитостатичної - часткового інгібування росту бактерійного газону, що утворюється на повноцінному агаризованому середовищі в зоні дифузного поширення мутагену. Мірою впливу лектинів на дані ефекти мутагенів слугувала різниця між діаметром зон пригнічення росту культури не обробленої (контроль) та обробленої лектином в абсолютних значеннях (мкм) та процентах.

Мутагенну дію іонів Ni(II) оцінювали за частотою виникнення прямих мутантів, резистентних до високих доз даного мутагену [14]. Критерієм оцінки антимурагенної дії лектинів було зменшення кількості колоній, резистентних до впливу іонів Ni(II).

Результати обробляли статистично за допомогою пакета програм Quattro Pro for Windows.

Результати та обговорення

З наведених у таблиці 1 даних видно, що штами *B. subtilis* мали різну чутливість до застосованих мутагенів у вказаних концентраціях. Так з 14 штамів чутливими до генотоксичної дії даної концентрації МННГ були *B. subtilis* 149TH *recP* та *B. subtilis* BD193 *recB3*. Для обох цих штамів припускають порушення генів, продукти яких контролюють процеси реплікації та репаративного синтезу ДНК.

У літературі зустрічаються повідомлення на дані щодо нечутливості бактерій до генотоксичної дії іонів Ni(II) у вигляді розчину [5]. Згідно одержаних

нами результатів, штами з непошкодженою системою репарації (SB25 та BD170), а також один з штамів, чутливих до дії МННГ (*recB3*) справді були нечутливими до високої концентрації нікелю. В той же час більшість штамів з пошкодженою системою репарації проявили чутливість до солі нікелю, проте в неоднаковій мірі. За цією ознакою їх умовно можна розподілити на три групи: слабка чутливість - *recM13*; помірна чутливість - штами *recP149*, *recA1*, *recA8*, *recL16*, *recF15* та висока чутливість - *recH342* і *recF18*. Мітоміцин звичайно застосо-

різні молекулярні форми лектину, що відрізняються за сумарним зарядом і в електричному полі розходяться до протилежних полюсів. Одна форма є кислою і має рІ близько 2,4 (позначена нами як кисла форма), друга форма має лужні властивості і концентрується при рІ 11,0 (позначена як лужна форма). Після діалізу проти забуференого фізіологічного розчину (рН 7,2) обидві форми лектину мали високу гемаглютинуючу активність з титром 1 : 128 - 1 : 256. Інтерес викликало порівняльне дослідження протекторної дії кожної з описаних форм лек-

Таблиця 2. Вплив кислої та лужної форм лектину суцвіть бузини чорної, одержаних за допомогою електрофокусування, на чутливість *rec⁻* мутантів *B subtilis* до генотоксичної дії МННГ (0,02 мМ)

Назва штаму	Варіант досліджу	Діаметр зони інгібування росту, мм			
		Відсутність росту	% до контролю	Частковий ріст	% до контролю
BD193 (<i>recB3</i>)	без лектину	25±0,4	100,0	41±0,8	100,0
	кисла фракція	19±0,6*	76,0	35±1,2*	85,4
	лужна фракція	35±1,2*	140,0	40±0,8	97,6
149TH (<i>recP</i>)	без лектину	25±0,6	100,0	36±1,2	100,0
	кисла фракція	18±0,4*	72,0	27±0,9*	75,0
	лужна фракція	25±0,6	100,0	38±0,8	105,6

*- вірогідні відхилення від контролю р < 0,05

вують для селекції та перевірки наявності в геномі *rec⁻* мутації. Досліджені нами штами, за винятком *rec⁺* були чутливими до цього антибіотика, що підтверджує *rec⁻* генотип. В той же час три штами мали порівняно більшу чутливість, а мутант *recP* мав найвищий рівень чутливості до мітоміцину. В цілому проведений аналіз узгоджується з літературними даними, що репаративні системи можуть мати певну спеціалізацію щодо мутагенів з різними механізмами дії.

Згідно даних електрофокусування, суцвіття бузини містять як мінімум дві

тину відносно генотоксичного ефекту МННГ (таблиця 2). На обох використаних *rec⁻* штаммах спостерігався вірогідний протекторний вплив кислої форми лектину.

Що стосується лужної форми, то в разі мутанта за геном *recP* вплив був відсутній, а у *recB3* спостерігалось навіть збільшення зони повного інгібування росту, що свідчить про сумісний генотоксичний ефект МННГ та даної форми лектину. Отже виявлена не однакова дія молекулярних форм лектину, котрі полярно відрізняються за фізико-хімічними властивостями, на-

Таблиця 3. Вплив кислої та лужної форм лектину суцвіть бузини чорної, одержаних за допомогою електрофокусування, на частоту мутантів *B. subtilis*, резистентних до дії іонів Ni(II) у концентрації 0,2М

Назва штаму	Варіант досліду	Число мутантів, резистентних до дії іонів Ni(II)	
		абсолютне число, 10 ³	% від контролю
SB25 (<i>rec</i> ⁺)	без лектину	1,60±0,3	100,0
	кисла фракція	0,16±0,2*	10,0
	лужна фракція	0,43±0,3*	26,9
149TH (<i>recP</i>)	без лектину	3,50±0,2	100,0
	кисла фракція	4,10±0,5	117,1
	лужна фракція	3,10±0,3	88,6
GSY1618 (<i>recF18</i>)	без лектину	5,00±0,6	100,0
	кисла фракція	1,80±0,3*	36,0
	лужна фракція	3,50±0,4	70,0
GSY2258 (<i>add-5</i>)	без лектину	1,80±0,3	100,0
	кисла фракція	0,48±0,4*	26,7
	лужна фракція	1,20±0,2	66,7

*- вірогідні відхилення від контролю $p < 0,05$

водить на думку, що з різною структурою може бути пов'язана і різна функціональна направленість дії лектину.

Як видно з даних таблиці 3, антимутагенна дія кислої та лужної форм лектину мала суттєві міжштамові відмінності. Виражений антимутагенний ефект обох вказаних форм лектину спостерігався лише у штама з непошкодженою системою репарації, при цьому кисла форма діяла майже втричі ефективніше, ніж лужна. Штам 149TH (*recP*) виявився нечутливим до обробки лектинами. Як відомо з літератури, продукт гена *recP* досі не ідентифікований. Припускають, що він належить до класу топоізомераз [15].

На штам GSY1618 (*recF18*) тільки кисла форма лектину мала вірогідний антимутагенний вплив, в той час як лужна форма виявила лише тенденцію до такого впливу. Проте антимутагенний ефект був виражений значно менше, ніж у випадку *rec*⁺ штама. При вивченні репарації УФ-пошкоджень було показано, що у мутанта *recF18*

порушено відновлення одноланцюгових розривів ДНК [16]. Можна припустити, що обробка кислою формою лектину суцвіть бузини, або перешкоджає взаємодії іонів Ni(II) з ДНК, яка спричиняє саме такі розриви, або ж впливає на ефективність постреплікативної репарації.

За своїми кількісними характеристиками вплив досліджуваних форм лектину суцвіть бузини на штам GSY2258 (*add-5*) нагадував такий для мутанта *recF18*, хоча продукти пошкоджених генів різні. Так відомо, що мутація в гені *add-5* призводить до зниження активності АТФ-залежної ДНК-ази - фермента, який здійснює функції ДНК-екзонуклеази [17].

Таким чином, одержані результати показують, що антимутагенна дія лектинів суцвіть бузини щодо іонів Ni(II) в значній мірі опосередкована репаративними системами. У *rec*⁺ штама прояв антимутагенних властивостей був максимальним і спостерігався у обох форм лектину. У двох *rec*⁻ му-

тантів (*recF18*, *add-5*) лише кисла форма виявила вірогідний антимутагенний вплив. Мутант за геном *recP* виявився зовсім нечутливим до обробки як кислою, так і лужною формою лектину суцвіть бузини. Це може свідчити про посередницьку роль продукту даного гену в реалізації генетичних ефектів досліджуваного лектину.

Висновки

За поведінкою в електричному полі виділені полярні за зарядом молекулярні форми лектину суцвіть бузини чорної - кисла та лужна, для яких встановлена різна здатність до протекторної відносно МННГ та антимутагенної відносно іонів Ni(II) дії. Вірогідні та повторювані на різних штамах вказані ефекти були характерні для кислої форми лектину. Антимутагенна дія кислої та лужної форм лектину мала суттєві міжштамові відмінності: у *rec+* штама обидві форми лектину проявили антимутагенні властивості; у двох *rec-* мутантів (*recF18*, *add-5*) - тільки кисла форма, а мутант за геном *recP* був нечутливим до антимутагенного впливу. Одержані результати свідчать на користь припущення, що антимутагенна дія лектинів суцвіть бузини залежить від структури молекули білку і опосередкована репаративною системою.

Перелік літератури

1. Дурнев А. Д., Серединин С. Б. Фармакологические проблемы поиска и применения антимутагенов // Вестник РАМН. - 1993. - №1. - С.19-25.
2. Lis H., Sharon N. Lectins: Carbohydrate-specific proteins that mediate cellular recognition // Chem. Revs. - 1998. - 98, №2. - P. 637-674.
3. Карпова И. С., Корецкая Н. В., Тихонова Т. Н., Пидпала О. В., Лукаш Л. Л. Влияние изолектинов *Phaseolus vulgaris* (РНА) на спонтанный мутагенез у *rec+* и *rec-* мутантов *Bacillus subtilis*. // Биополимеры и клетка. - 2001. Т17. №5., стр. 406-410.
4. Карпова И. С., Корецкая Н. В. Дослідження модифікуючого впливу лектинів на токсичність і мутагенність іонів Ni(II) в культурі *Bacillus subtilis*. // Біополимери і клітина. - 2003. Т.19. - №3. - С.224-230.
5. Лукаш Л. Л. Мутагенез і антимутагенез - протилежно спрямовані процеси, що визначають рівень генетичної мінливості та стабільності // Биополимеры и клетка. - 1998. - 14, №6. - С. 500-511.
6. Van Damme J. M., Peumans W. J., Pustai A., Bardocz. S. Handbook of plant lectins : properties and biomedical applications. - Chichester Inc.: John Wiley and Sons, 1998. - 451p.
7. Bacillus genetic stock center. Strains and data / Fourth edition. Columbus, Ohio, USA. - 1989. - 160 p
8. Максимчук Т. П., Бабенко Г. А. Особенности генотоксического и канцерогенного действия металлов // Эксперим. онкология. - 1999. - 12, №4. - С. 3-9.
9. Sova. O. Autofocusing - a method for isoelectric focusing without carrier ampholytes // J.Chromatography. - 1985. - 320. - p.15-22.
10. Луцик М. Д., Панасюк Е. Н., Луцик А. Д. Лектины. - Львов: Вища школа, 1981. - 152 с.
11. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. - 1970. - V. 227. - N5259. - P. 680-685.
12. Kada T., Sadaie Y., Sakamoto Y. // Handbook of mutagenicity test procedures // Ed.by B. J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols, C. Ramel. - Amsterdam; New York; Oxford: Elsevier, 1984. - P.13-31.
13. Прозоров А. А. Трансформация у бактерий. - М.: Наука, 1988. - 256 с.
14. Миллер Д. Эксперименты в молекулярной генетике. - Москва: Мир, 1976. - 436 с.
15. Башкиров В. И., Хасанов Ф. К., Лакомова Н. М. Незаконная рекомбинация и амплификация у *Bacillus subtilis* // Молекулярные механизмы генетических процессов. М.: Наука, 1990. - P.237-243.
16. Harford N., Samojlenko., Mergey M. Isolation and characterization of recombination deficient mutants of *Bacillus subtilis* // Bacterial transformation. L.:Academic Press, 1973. - P. 241-267.
17. Lovett S. T., Luisi-Deluca C., Kolodner R. D. The genetic dependence of recombination in

recD mutants of *E.coli* // Genetics.- 1988.- 120, N 1.- P.37.

Представлено В.А. Кунахом
Надійшла 11.09.2005 р.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМУТАГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКТИНА СОЦВЕТИЙ БУЗИНЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ *REC⁻* МУТАНТОВ *BACILLUS SUBTILIS*

И. С. Карпова, Н. В. Корецькая

Институт молекулярной биологии и генетики
НАН Украины
03143, г. Киев, ул. Акад. Заболотного 150

Выделены две молекулярные формы лектина соцветий *Sambucus nigra*, одна из которых несет отрицательный, а другая - положительный заряд, и установлена у них различная способность оказывать протекторное относительно МННГ и антимутагенное относительно ионов Ni(II) действие. Установлено, что антимутагенное действие препаратов лектина зависело от генотипа штаммов *Bacillus subtilis* с различными нарушениями в системе репарации. В случае репаративной системы дикого типа, антимутагенные свойства проявили обе формы лектина; у мутантов *recF18* и *add-5* - только кислая форма, а мутант по гену *recP* оказался нечувствительным к антимутагенному влиянию обеих форм. Высказывается предположение, что антимутагенное действие лектинов соцветий бузины зависит от структуры мо-

лекулы белка и опосредовано системой репарации.

Ключевые слова: антимутагенез, лектины, *Sambucus nigra*, мутанты *Bacillus subtilis*, репарация.

STUDY OF THE ANTIMUTAGENIC ACTIVITY OF THE LECTIN FROM ELDER INFLORESCENCES ON *REC⁻* MUTANTS OF *BACILLUS SUBTILIS*

I.S. Karpova, N.V. Koretska

Institute of Molecular Biology and Genetics NAS
of Ukraine
03143, Kyiv, Akademika Zabolotnoho str., 150

Two molecular forms of the lectin from elder (*Sambucus nigra*) inflorescences, which have negative and positive charge, were isolated and their different protective activity against MNNG and different antimutagenic activity against nickel ions were demonstrated. It was shown that antimutagenic effect depends on genotype of *Bacillus subtilis* strains with different defects in the repair system. Both forms of the lectin demonstrated their antimutagenic activity if the repair system was of wild type; only acidic form was active if *recF18* or *add-5* mutants were used, and there was no antimutagenic effect in the case of *recP* mutant. It is supposed that protective and antimutagenic action of different molecular forms of the lectin from elder inflorescences depends on the protein structure and is mediated by repair mechanisms.

Key words: antimutagenic activity, lectins, *Sambucus nigra*, mutants, *Bacillus subtilis*, repair.

УДК 616.076+613 648+613 95

МЕДИЧНІ ТА ЦИТОГЕНЕТИЧНІ НАСЛІДКИ ЧОРНОБИЛЬСЬКОЇ КАТАСТРОФИ СЕРЕД ДІТЕЙ ПРИКАРПАТТЯ

З. Р. КОЧЕРГА

Івано-Франківська державна медична академія
76000, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2, тел. 2-42-95

Проведено моніторингове дослідження захворюваності дітей, що потерпіли внаслідок аварії на ЧАЕС. Доведено зростання цього показника за всіма класами хвороб з 1987 по 2003 роки. Частота вроджених вад розвитку по області становила від 24,8 до 27,9% за досліджуваний період. Цитогенетичні показники лімфоцитів периферійної крові дітей, що проживають у радіаційно забрудненому с. Стецева достовірно відрізнялись від таких у дітей умовно екологічно чистого с. Ільці. У спектрі хромосомних аберацій дітей із зони посиленого радіоекологічного контролю переважали маркери радіаційного мутагенезу.

Ключові слова: дитячі хвороби, контроль, вроджені вади, радіологічний мутагенез, аберації хромосом

Вступ. Аварія на Чорнобильській АЕС значно ускладнила екологічну ситуацію в Україні на тлі вже існуючого техногенного навантаження. Вона сприяла розширенню контакту населення з іонізуючим випромінюванням - одним із найпотужніших мутагенів, що індукує пошкодження геному у всіх живих організмів, включаючи людину. Стійкі негативні тенденції в демографічних процесах, найбільш виразні на радіоактивно забруднених територіях, зумовлені регресійним характером відтворення та екологічною міграцією із зон забруднення [1]. Підвищений радіоактивний фон, визнаний у 2294 населених пунктах 12 областей, призвів до виникнення порушень росту та розвитку дітей, підвищення частоти хромосомних ушкоджень, розладів імунної системи, мультифакторіальної патології. Тому медичний захист постраждалого населення, пошук критеріїв інтенсивності мутагенного забруднення належать до найактуальніших проблем подолання наслідків Чорнобильської катастрофи. Відомо, що динамічний облік частоти вроджених вад розвитку (ВВР) опосередковано засвідчує екологічну ситуацію в регіонах [2]. Тим більше, що спадкові хвороби (СХ) і вроджена патологія в даний час

складає значну частину в структурі загальної захворюваності і смертності населення, особливо дитячого віку. За даними ВОЗ, близько 5% новонароджених страждають спадковими порушеннями, 40% ранньої малюкової смертності і інвалідності з дитинства обумовлено спадковими факторами [3]. Використання вроджених вад розвитку в якості індикаторів шкідливого впливу факторів оточуючого середовища на людину визначається тим, що рівень цієї патології у новонароджених залишається високим (1990 р. - 21,9 на 1000 народжених живими, 1998 р.- 32,0, 1999 р. - 31,4, 2000 р. - 30,7, 2001 р. - 30,1, 2002 р. - 30,7). До того ж значна питома вага ВВР в структурі перинатальної і малюкової смертності [4]. Така ситуація вимагає розробки ефективних методів профілактики ВВР, програма якої повинна базуватися на даних про тягар спадкової патології, який зростає за рахунок посилення мутаційних процесів та проявів (пенетрантності) патологічних генів [5].

Одним із пріоритетних напрямків при медичному контролі за особами, які свідомо чи несвідомо контактували з іонізуючим випроміненням, є цитогенетичні обстеження [6]. З 1986 року останньому підлягають всі люди, що постраждали внаслідок Чорнобильської аварії. Населення забруднених радіонуклідами територій України ще й нині зазнає постійного тиску малих доз іонізуючої радіації.

Враховуючи вищесказане метою даного дослідження було встановлення динаміки частоти ВВР і СХ, стану здоров'я та спадкового апарату дітей різних екологічних зон Прикарпаття і потерпілих в результаті аварії на ЧАЕС.

Матеріали і методи

Стан здоров'я та організацію медичної допомоги потерпілим дітям Івано-Франківської області оцінено за статистичними даними (форми 16 та 070-у), що подаються в районні управління з надзвичайних ситуацій. На території області станом на 1.01.2004 р. перебуває на обліку в лікувально-профілактичних закладах 4011 дітей, постраждалих внаслідок аварії на ЧАЕС, з них: у віці до 1 року - 25 дітей, від 0-4 років - 236, від 5-9 років - 1110, від 10-14 років - 1832. В IV групі первинного обліку - залишились 833 підлітків (хлопчиків - 45,8%, дівчаток - 44,2%). Всі ці діти належать до IV групи первинного обліку (народились від потерпілих батьків). Окрім того досліджено стан здоров'я дітей, які проживають на територіях посиленого радіоекологічного контролю. Для вивчення ВВР і СХ проведено аналіз історій новонароджених, звітно-статистичної документації пологових стаціонарів Івано-Франківської області від 2001 до 2003 років. Статистична обробка показників проведена за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel 2000.

Проведено цитогенетичне дослідження дітей населених пунктів з різним екологічним станом: с. Стецева Снятинського району (зона посиленого радіологічного контролю), с. Ільці Верховинського району (умовно екологічно чисте). Обстежено 113 дітей обох статей (64 дівчинки і 49 хлопчиків) віком від 7 до 10 років. Матеріалом для хромосомного аналізу служили лімфоцити периферійної крові. Збір крові, культивування лімфоцитів, виготовлення цитогенетичних препаратів здійснено за мето-

дичними рекомендаціями МОЗ України (Київ, 2003) [7,8]. Проаналізовано по 200 метафаз від кожної дитини з реєстрацією всіх аберацій хроматидного і хромосомного типів.

Результати та обговорення

При аналізі статистичних даних (форма 16), що характеризують стан здоров'я потерпілих дітей Івано-Франківської області, встановлено щорічне поступове погіршення їхнього здоров'я та зростання захворю-

вості за основними класами хвороб довела її перевагу по всіх нозологічних одиницях у потерпілих дітей від 0-14 років (табл.1). Як видно з даних таблиці, в структурі захворюваності дітей до 14 років по області у 2003 році на першому місці були хвороби органів дихання, на другому - кровотворних органів, на третьому - органів травлення, на четвертому - нервової та на п'ятому - хвороби ендокринної систем.

Варто зазначити, що захворювані-

Таблиця 1. Захворюваність дітей 0-14 років з основних класів хвороб

Класи хвороб	Захворюваність потерпілих на 1000; 2003 рік по області	Захворюваність потерпілих на 1000; 1987 рік по Україні
Усього хвороб в т.ч.:	1500,1	455,4
новоутвори	1,5	0,3
хвороби ендокринної системи	48,1	23,3
хвороби крові та кровотворних органів	182,7	14,2
психічні захворювання	38,4	12,8
Хвороби нервової системи	91,2	14,1
хвороби органів дихання	866,4	314,2
хвороби органів травлення	101,2	23,9
вроджені аномалії	2,7	0,8

ваності. У 1987 році остання серед потерпілих дітей не відрізнялась від такої загальної популяції. Однак з 1993 року захворюваність потерпілих дітей перевищує загальноукраїнський показник. За 15 років вона зросла більше ніж у 3 рази і складала в 2003 році 1500,1 на 1000 дітей. Серед усіх зареєстрованих хвороб, вперше виявлені в житті дитини в 1987 році становили 57,2%, а в 2003 році - 65,4% (2389,2). Оцінка захворюва-

вості кровотворних органів і крові зросла за 15 років більш, ніж у 12,9 рази і становила 182,7. Високий рівень з тенденцією до росту мають хвороби органів травлення (104,2), частіше стали випадки виявлення виразкової хвороби 12-палої кишки, шлунку. По інших класах хвороб, які мають меншу питому вагу в структурі захворюваності, також встановлено їхнє збільшення порівняно з 1987 роком: новоутвори 7, хвороби нервової системи у

Таблиця 2. Питома вага ВВР ЦНС серед усіх аномалій, %

Райони	2001	2002	2003
Богородчанський	14,2%	3,3%	-
Верховинський	-	-	40%
Галицький	8,3%	-	-
Долинський	-	-	17,4%
Калуський	16,3%	-	6,5%
Коломийський	-	2,7%	3,2%
Косівський	5,8%	-	-
Тисменецький	33,3%	-	-
Тлумацький	7,7%	-	5,3%
Болехів	-	-	50%
ОПЦ	7,5%	5%	-
МПБ	8,3%	1,4%	-
Всього по області	6,1%	5 6%	3,2

Примітка. У Городенківському, Надвірнянському, Рогатинському, Снятинському районах та м. Яремчі ВВР ЦНС за досліджувані роки не виявлено.

6,5, ВВР - в 4, психічні захворювання - в 3 рази.

Окремим розділом роботи по медичному обслуговуванню є динамічний нагляд за станом здоров'я постраждалих 1748 дітей контрольованих сіл Снятинського району. Виявлено, що рівень захворюваності та її структура у цих дітей коливалася майже на рівні показників області.

При аналізі частоти ВВР серед усіх новонароджених встановлено, що даний показник залишався високим по області за 2001 - 2003 роки, особливо у 2002 році - 27,9 на 1000 новонароджених, що корелює з даними по Україні [9]. У Богородчанському, Тлумацькому районах та в м. Яремче частота ВВР переважає дані по обласному центру у 3 - 3,5 рази. У спектрі ВВР перше місце займають вади кістково-м'язової системи (12,4 - 15,5%), на другому місці - ВВР статевих органів

(3,2 - 3,9%), третє місце залишається за ВВР системи кровообігу.

Велике значення має діагностика і профілактика вад розвитку невральної трубки, які спричинюють найбільший відсоток інвалідності. Частота виявлення найпоширеніших вад невральної трубки в більшості країн в 2-10 разів менша, ніж в Україні [4]. Водночас слід зауважити, що частота ВВР центральної нервової системи в значній мірі залежить від стану довкілля. При дослідженні питомих ваги ВВР нервової системи серед усіх вад розвитку виявлено позитивну тенденцію до зниження рівня даного показника за досліджуваний період: по області в цілому - у 2 (з 6,1% у 2001 до 3,2% у 2003 роках), у Калуському районі у 2,5, в Тлумацькому - в 1,5 рази. У міському пологовому будинку питома вага ВВР центральної нервової системи серед інших вад становила: у 2001 році - 8,3%, у 2002 - 1,4%, у 2003

році - не зустрічалися. У Городенківському, Надвірнянському, Рогатинському, Снятинському районах та м. Яремче дана патологія не зареєстрована (табл. 2). Отримані результати засвідчують покращення пренатальної діагностики ВВР центральної нервової системи та ефективність її профілактики.

Результати аналізу частоти хромосомних аберацій (ХА) в лімфоцитах крові дітей, які проживають в різних за ступенем радіаційного забруднення зонах Івано-Франківської області довели достовірні відмінності стану спадкового апарату різних популяцій. Середньогрупова частота метафаз з ХА у дітей с. Стецева ($3,05 \pm 0,15$) переважає таку в с. Ільці у 2,8 рази. Відмічено розбіжність по діапазону індивідуальних коливань: у дітей с. Стецева частота ХА коливалася від 0,7 до 8,5%; с. Ільці - від 0,0 до 2,0%. ВУ деяких дітей рівень ХА перевищував 3% - у дітей с. Стецева - 8,5%. Загальна кількість ХА на 100 проаналізованих метафаз також суттєво відрізнялась у всіх досліджуваних дітей і становила у с. Стецева - $2,06 \pm 0,08$; у с. Ільці - $1,23 \pm 0,03$. В контролі співвідношення аберацій хроматидного і хромосомного типів близьке до значень 77,0 : 23,0%. У дітей с. Стецева це співвідношення становило 41,4 : 48,6%. Ідентифіковано маркери радіаційної дії: дицентрики, кільцеві хромосоми, анормальні моноцентрики. Більшість пошкоджень хромосом складала прості ХА - хроматидні (одиначні фрагменти) та хромосомні (парні фрагменти). Нестабільні ХА (дицентрики та кільцеві хромосоми) переважали майже в 10 разів у дітей с. Стецева ($0,25 \pm 0,003$) порівняно з такими у дітей с. Ільці (відповідно $0,03 \pm 0,015$ на 100 проана-

лізованих метафаз). Стабільні цитогенетичні маркери опромінення (анормальні моноцентрики) були виявлені у всіх досліджуваних групах. Водночас більшу кількість їх зареєстровано у с. Стецева ($0,11 \pm 0,03$), порівняно з показником у неекспонованій популяції ($0,05 \pm 0,04$).

В результаті проведення цитогенетичного моніторингу за контингентами пріоритетного спостереження, які постраждали від дії факторів Чорнобильської аварії, доведено зростання інтенсивності соматичного хромосомного мутагенезу за постчорнобильський період. Не виключено, що радіаційно-індуковані ХА, які спостерігаються в соматичних клітинах населення забруднених радіонуклідами територій, підвищують нестабільність геному та збільшують його чутливість до дії різних кластогенів, що може бути основною ланкою у реалізації медичних наслідків опромінення людини та розцінюється як показник канцерогенного ризику.

Перспективи подальших розвідок у даному напрямі полягають у пошуку можливих корелятивних зв'язків між цитогенетичними та деякими клінічними ефектами, індукованими опроміненням, розробці профілактичних заходів по зниженню мутагенної дії малих доз іонізуючої радіації, проведенні медико-генетичного консультування всіх шлюбних пар перед плануванням дітонародження, цитогенетичному дослідженні дітей та батьків з групи ризику, ідентифікації потенційних мутагенів і тератогенів у довкіллі, охороні навколишнього середовища.

Висновки

1. Моніторингове дослідження захворюваності дітей, що потерпіли

внаслідок аварії на ЧАЕС, довело зростання цього показника з 1987 по 2003 роки за всіма класами хвороб.

2. В структурі захворюваності дітей до 14 років перше місце займали хвороби органів дихання, друге - кровотворних органів і третє - органів травлення.

3. Частота ВВР по області становить від 24,8 до 27,9 % за досліджуваний період. У спектрі ВВР переважали вади кістково-м'язової системи, на другому місці - ВВР статевих органів, на третьому - ВВР системи кровообігу. Позитивна тенденція до зниження питомої ваги ВВР центральної нервової системи серед інших вад розвитку свідчить про ефективність профілактичних заходів.

4. Цитогенетичні показники лімфоцитів периферійної крові дітей, що проживають у радіаційно забрудненому с. Стецева, достовірно відрізнялись від таких у дітей умовно екологічно чистого с. Ільці. У спектрі ХА дітей із зони посиленого радіоекологічного контролю переважали маркери радіаційного мутагенезу.

Перелік літератури

1. Денисенко Г.Т., Шульженко О.Ф. Медичні та радіобіологічні наслідки Чорнобильської катастрофи - сучасне та майбутнє // Мат. X конгресу світової федерації українських лікарських товариств. - Чернівці. - 2004. - С.47.
2. Мониторинг врожденных пороков развития / Н.П.Бочков, Н.А.Жученко, Е.А.Кирилова, И.К.Волков и соавт.//Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 1996 - №2. - С. 20-24.
3. Иванов В.П., Чурносоев М.И., Кириленко А.И. Врожденные пороки развития у новорожденных детей Курской области // Российский вестник перинатологии и педиатрии - 1997. - №4. - С.18-23.
4. Бариляк І.Р. Проблеми профілактики спадкової патології та вроджених вад роз-

витку // Журнал АМН України. - 2003. - т. 9, №. 4. - С 656-667.

5. Бариляк І.Р., Дуган А.М. Оценка генетического риска в связи с загрязнением окружающей среды // Мониторинг та прогнозування генетичного ризику в Україні. - К.: НТТУ "КПІ", 1999. - Вип. 2. - С.256-267.
6. Пілінська М.А., Дибський С.С., Дибська О.Б., Педан Л.Р. Результати цитогенетичного обстеження дітей, які мешкають на контамінованій радіонуклідами території зони зобної ендемії Рівеньської області України // Цитология и генетика. - 2003. - №3. - С.55-59.
7. Зернова-Любимова Т.Е., Горовенко Н.Г. Цитогенетичні методи дослідження зромосом людини: Методичні рекомендації. - К., 2003. - 24с.
8. Зернова-Любимова Т.Е., Горовенко Н.Г., Стандарти аналізу препаратів хромосом людини: Методичні рекомендації - К., - 2003. - 52с.
9. Ковальчук Л.Є., Кочерга З.Р., Стукал В.С. Стан та перспективи профілактики вроджених вад розвитку в Івано-Франківській області // Збірник наукових праць. - Київ-Луганськ - Харків. 2004. Випуск7(60). 2004.- С-94-98.

Представлено Л.Л. Лукаш
Надійшла 21.02.2005 р.

МЕДИЦИНСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ КАТАСТРОФЫ СРЕДИ ДЕТЕЙ ПРИКАРПАТЬЯ

З. Р. КОЧЕРГА

Ивано-Франковская государственная медицинская академия
76000, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2,
тел. 2-42-95

Проведен мониторинг заболеваемости детей, пострадавших в результате аварии на АЭС. Доказано увеличение этого показателя за всеми классами болезней с 1987 по 2003г. Частота врожденных аномалий развития в области составляла от 24,8 до 27,9% за исследуемый период. Цитогенетические показатели лимфоцитов периферической крови детей из радиационнозагрязненного

с. Стецева достоверно отличались от таких у детей из экологически чистого с. Ильцы. В спектре хромосомных абераций детей из зоны усиленного радиоэкологического контроля преобладали маркеры радиационного мутагенеза.

Ключевые слова: детские болезни, контроль, врожденные уродства, радиологический мутагенез, аберации хромосом.

MEDICAL AND CYTOGENETIC AFTEREFFECTS OF THE CHERNOBYL DISASTER AMONG THE CHILDREN OF SUBCARPATHIANS

Z. P. Kocherga

Ivano-Frankivsk Medical State Academy
76000, Ivano-Frankivsk, Galyrska str , 2
tel.: 2-42-95

Monitoring investigation of children's illness that were damaged after Chernobyl catastrophe was made. The increase of this indicator as for all forms of illnesses from 1987 to 2003 was proved. During investigating period the frequency of congenital malformations in the region ranged from 24,8 to 27,9%. Cytogenetic indicators of the peripheral blood lymphocytes in children who live in radiocontaminated village of Steceva differed greatly from those who live in conditionally ecoclean village of Iltsi. In spectrum of chromosome aberation among children from the zone of persistent radioecological control markers of radiological mutagenesis took preference.

Key words. children's illness, monitoring, congenital malformations, radiological mutagenesis, chromosome aberation.

УДК 575.113+575.11+576.12

ТРАНСГЕННІ РОСЛИНИ ЯК МОДЕЛЬНИЙ ОБ'ЄКТ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ МУТАГЕННОГО ФОНУ ДОВКІЛЛЯ

Л. Є. КОВАЛЬЧУК, Н. О. ОРЕЛ

Івано-Франківська державна медична академія
76000, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2, тел 2-42-95

Розроблено методологію отримання трансгенних ліній рослин (TR) Arabidopsis thaliana з генами RPD3, SIR2, SU(VAR) 3-7, які регулюють структуру хроматину. Створено конструкції цих генів із векторами pMEX, pTA7002, VinAR. Гістохімічним аналізом на реставрацію β -глюкуронідазного гена виявлено незначне зменшення явищ інтрахромосомної гомологічної рекомбінації під впливом MMS, MN, MNU, дексаметазону та підвищену чутливість проростків TR до мітоміцину C. Обґрунтовано використання отриманих TR, чутливих до хімічних чинників, як модельного об'єкта, для підвищення ефективності тестування мутагенів довкілля.

Ключові слова: трансгенні рослини, Arabidopsis thaliana, GUS-гени, гомологічна рекомбінація, хімічні мутагени

Вступ. Нині геном людини змушений витримувати значний пресинг мутагенів, канцерогенів, що потрапляють у довкілля з викидами підприємств, автотранспорту, побутової хімії тощо. Жодні експерименти не в змозі так швидко змінити генофонд популяції людини, як вплив генетично небезпечних антропогенних чинників забруднення навколишнього середовища [1]. Тому першочерговим завданням науковців є розробка та здійснення заходів з попередження неконтрольованого забруднення довкілля [2]. У зв'язку з цим в Івано-Франківській медичній академії впродовж останніх 15 років реалізується комплексна екогенетична програма, одним з напрямків якої є розробка і впровадження нових комплексних тест-систем, які можуть об'єктивно відображати гено- і цитотоксичну дію мутагенів і канцерогенів. Порівняльний аналіз результативності застосування різних тест-об'єктів засвідчив перевагу використання рослин [2, 3]. Це пов'язано з тим, що встановлення генетичних аспектів мутагенного забруднення та прогнозування віддалених наслідків впливу іонізуючого випромінювання та хімічних мутагенів на стан живої природи та здоров'я людей потребують системного дослідження, оскільки для їх прояву повинно пройти багато часу [4]. Тому

тест-об'єкт повинен поєднувати швидку зміну поколінь з великою кількістю нащадків та універсальністю генетичного коду. Таким вимогам відповідають рослинні тест-системи [5]. Поряд з рекомендованим групою експертів ВООЗ цитогенетичним аналізом патологій мітозу в первинній меристемі *Allium* сера [6], для тестування радіаційного забруднення вперше застосовано трансгенні рослини (ТР) *Nicotiana tabacum* і *Arabidopsis thaliana* [3]. Вони містили перервану версію гена-маркера β -глюкуронідази (GUS-гена), як рекомбінаційного субстрату для виявлення рівнів двониткових розривів ДНК та їхньої репарації шляхом ІГР, зумовленої впливом іонізуючої радіації. Продукт експресії GUS-гена - сині плями відображають частоту явищ ІГР, кількість яких пропорційна інтенсивності радіаційного фону. Таким чином, окрім використання ТР в біотехнології для отримання паливних матеріалів, хімічних сполук, цінних ліків [7], було розроблено трансгенні лінії, чутливі до радіонуклідів. Водночас техногенне забруднення довкілля зумовлене не лише останніми, але й хімічними чинниками, генетичні наслідки впливу яких еквівалентні дії іонізуючої радіації [8]. Тому актуальним є пошук ТР, які могли б використовуватися для індикації хімічних мутагенів.

Враховуючи вищесказане метою роботи було підвищення ефективності тестування інтенсивності мутагенного фону довкілля за допомогою ТР *Arabidopsis thaliana*, чутливих до хімічних сполук.

Матеріали і методи

Матеріалом дослідження слугували ТР *Arabidopsis thaliana*, агробак-

терії *Agrobacterium thumefaciens* і *Escherichia coli*, гени - регулятори структури хроматину. Для трансформації використано два основні штами бактерій: 1) *Escherichia coli* - канаміцин-резистентний штам DH5 α (фірма Gibco BRL, Eggenstein); 2) *Agrobacterium thumefaciens* - штам C58 Cl Rf, що містить ген резистентності до рифампіцину. Конструкції генів RPD3, SIR2 like і SU(VAR)3-7 отримано у відповідних векторах: pMEX, pTA7002, BinAR. Гени RPD3 і SIR2 були розташовані в антисенс - орієнтаціях, ген SU(VAR)3-7 - у сенс - орієнтації. 55 трансформаційних експериментів проведено на рослинах *Arabidopsis thaliana* дикого типу екотипу Colambia (Col-O) та ТР *Arabidopsis thaliana* екотипу C24: а) лінія N1DC1 по.11, що містить 3 копії перерваного GUS - гена в прямій орієнтації; б) лінія N1DC4 по.651, що містить 1 копію перерваного GUS - гена в оберненій орієнтації. ДНК з листків *Arabidopsis thaliana* виділено за методом Fulton [9]. Саузерн-блот аналіз проведено через нерадіоактивну DIG систему, із застосуванням дигоксигенін - стероїдного гаптену. ДНК-проби було помічено DIG-dUTP через дві послідовні полімеразно-ланцюгові реакції (ПЛР). Субстратом для ПЛР слугували плазмідна ДНК, ПЛР продукти та рослинна ДНК. Секвенування ДНК виконано за загальноприйнятими методами у секвеначійній лабораторії Інституту генетики рослин під керівництвом професора Х. Пухти (Гатерслебен, Німеччина).

Тест-система з використанням перерваної версії GUS - гена в отриманих ТР дозволяє ідентифікувати мутації, індуковані хімічними сполуками. β -глюкуронідаза - фермент бактерійного походження, який розщеплює глюку-

ронід. Продукт реакції має синій колір і може бути визначений неозброєним оком у всіх органах і тканинах рослин в процесі гістохімічного аналізу [10]. Для тестування проростків TP *Arabidopsis thaliana* на чутливість до хімічних реагентів було використано мутагени: 1) MMS (Methanesulfonous acid methyl ester) у концентраціях 25, 50, 75, 100 і 150 пМ; 2) Мітоміцин С у концентраціях 0, 5, 10, 15, 20, 25 і 30 мг/л; 3) MN (1,2-Dihydropyridazin-3,6-dion 99%) (Т) (3,6-Dihydroхуридазин, 99%) у концентраціях 0,1, 0,25, 0,5, 1,0, 2,5 млМ; 4) МNU (N-Nitroso-N-Methylurea) у концентраціях 0,25, 2,5, 1,0, 2,5, 5,0 млМ. Пророщування рослин здійснено у теплиці за умов 16 год світло/ 8 год темрява за температури від +20°C до +22°C. При натурному експерименті насіння пророщувалося на зразках ґрунтів з різних територій Прикарпаття: хімічно забруднених міст (Івано-Франківськ, Калуш, Бурштин, Коломия) та умовно екологічно

чистого Верховинського району.

Статистичну обробку результатів здійснено за допомогою комп'ютерної програми Excel, що входить до пакету Microsoft Office 2000.

Результати та обговорення

В результаті проведених клонувань отримано конструкції генів SIR2, SU(VAR) та RPD3 у вектори рMEX, BinAR та рTA7002, що перевірено за допомогою ПЛР та рестрикції по відповідних сайтах. З метою отримання TP було проведено 55 трансформацій рослин методом вакуумної інфільтрації з *Agrobacterium tumefaciens*, у яку було затрансформовано отримані плазміди. Після дозрівання зібране насіння TP було простерилізовано та висіяно на поживне середовище з відповідним антибіотиком: для рослин, трансформованих вектором рMEX - метотрексат, вектором рTA7002 - гігроміцин, вектором BinAR - канаміцин. Отримані проростки скла-

Таблиця 1. Отримані кандидати на трансгенні лінії рослин *Arabidopsis thaliana*

Рослини для трансформації	Конструкція гена у векторі	Кількість трансформацій	Трансгенні лінії або кандидати
Col-O	рMEX/SIR2	6	9
	рTA/SIR2	4	4
	BinAR/SIR2	3	1
	рMEX/RPD3	7	15
	рTA/RPD3	3	5
	BinAR/RPD3	2	2
	рMEX/SU(VAR)3-7	4	14
N1DC4 no651	рMEX/SIR2	3	1
	рMEX/RPD3	7	9
	рMEX/SU(VAR)3-7	5	5
N1DC no11	рMEX/SIR2	3	11
	рMEX/RPD3	4	-
	рMEX/SU(VAR)3-7	4	4
BAR	рMEX/SIR2	3	5
	рMEX/RPD3	5	7

ли покоління F_1 . Вони були кандидатами на TP, які було висаджено у землю для отримання насіння (табл. 1).

Як видно з даних таблиці, кількість трансформацій не завжди корелювала з кількістю трансгенних ліній. Рослини дикого типу Col-O з вектором pMEX та досліджуваними генами давали найбільшу кількість кандидатів трансгенних ліній (9, 15, 14, 11). У випадку використання вектора pMEX у рослинах N1DC4 по651 pMEX/SIR2, N1DC4 по651 pMEX/ RPD3 і N1DC по11 pMEX/RPD3 значне число проведених трансформацій і невелика кількість отриманих TP пояснюється складністю селекції рослин цим вектором на метротрексаті. Це зумовлено сильною токсичністю антибіотика, необхідністю індивідуального підбору селективної концентрації в кожному конкретному експерименті.

З метою ідентифікації в TP SIR2, RPD3 та SU(VAR)3-7 генів покоління F_2 було тестовано сегрегацією та Саузерн-блот аналізом на наявність трансгена та можливу кількість копій. Найбільшу кількість трансгенних копій отримано в лініях NHDC4 по651 pMEX/SIR2 4, NHDC4 по651 pMEX/SIR2 5, Col-O BinAR/RPD3 9 та Col-O pTA/RPD3 2. Оскільки гени знаходяться в антисенс орієнтації, число копій не було визначальним у подальших експериментах.

Наступним етапом дослідження була селекція TP *Arabidopsis thaliana*, чутливих до хімічних мутагенів, які спричинюють дволанцюгові розриви ДНК. TP з генами RPD3 та SU(VAR) не реагували на різні концентрації цих сполук. При обробці проростків TP з геном SIR2 доведено різну чутливість різних ліній. У TP лінії Col-O pMEX/SIR2 достовірної залежності фенотипових

змін і частоти явищ ІГР від кількості MMS у розчині не спостерігалось. Це можна пояснити особливостями дії MMS на геном TP.

Зростання концентрації мітоміцину С зумовило підвищення чутливості трансгенної лінії Col-O pMEX/SIR2 до даної хімічної речовини. Найменшу чутливість до мітоміцину С виявили лінії pMEX/SIR2 №2, №7 №9 і №10. Водночас TP pMEX/SIR2 №3, pMEX/SIR2 №6, і pMEX/SIR2 №8 розподілились майже наполовину за фенотипом.

При обробці TP Col-O pTA/SIR2 хімічними реагентами враховувалося, що pTA вектор - індуцибельний. Тому в цих дослідах порівнювалася поведінка індукованих дексаметазомом та неіндукованих (контроль) проростків. Було протестовано три лінії TP - Col-O pTA/SIR2 №1, pTA/SIR2 №2 та pTA/SIR2 №4. Як і у попередньому досліді з обробкою проростків різними концентраціями MMS, збільшення чутливості порівняно з контролем не спостерігалось. Вплив різних концентрацій мітоміцину С проявлявся уповільненням розвитку та відмиранням TP лінії Col-O pTA/SIR2, як індукованих дексаметазомом, порівняно з контрольними неіндукованими рослинами. Виявлено достовірні зміни ІГР цієї лінії TP, зумовлені мітоміцином С. Найчутливішою до мітоміцину С виявилася лінія Col-O pTA/SIR2 №4. Друге місце за змінами фенотипу зайняла лінія Col-O pTA/SIR2 №2. Водночас у лінії Col-O pTA/SIR2 №1 ідентифіковано тенденцію до незначного зниження кількості фенотипових змін (терміну проростання, утворення розетки, товщини стебла).

Отримані результати по обробці трансгенних проростків ліній Col-O

pMEX/SIR2 та Col-O pTA/SIR2 хімічними реагентами дозволяють припустити, що SIR2 ген кодує протеїн, відсутність якого перешкоджає рекомбінаційним процесам ДНК [11].

Аналогічним способом було протестовано трансгенні лінії Col-O BinAR/SIR2. Проростки, що оброблялися MMS, MNU і MN показували незначне відхилення росту і розвитку, однак відмінності не були достовірними. Проведений аналіз чутливості проростків TP ліній Col-O BinAR/SIR2 до мітоміцину С довів виражені фено-типові зміни у лініях Col-O BinAR/SIR2 №7 та Col-O BinAR/SIR2 №8. Лінії Col-O BinAR/SIR2 №3 та Col-O BinAR/SIR2 №9 виявилися найбільш толерантними до дії мітоміцину С. Подібні результати отримані іншими дослідниками щодо функції SIR2 гена [12].

Для подальших експериментів з визначення частоти ІГР відібрано лінії з геном SIR2 (N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 1-8), які показали найбільшу чутливість до MMS та мітоміцину С. У гомозиготного покоління F₃ TP було виявлено зменшення реставрації GUS - гена, тобто рекомбінаційних випадків (табл. 2).

Частота ІГР знижена у 3,45, 3,92, 3,69 та 3,16 рази в лініях N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №2, N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №4, N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №7, N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №8, відповідно (P<0,001). Відновлення GUS гена, близьке до контрольних значень, показано в TP N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №6.

Частота та розподіл синіх плям у різних органах TP підтверджували кількість явищ ІГР. Подібні результати про вплив SIR гена на соматичну ІГР у TP *Arabidopsis thaliana* отримано вперше. Вони потребують наступних експериментальних підтверджень, оскільки в літературі наводяться дані лише про вплив SIR білка на негомологічну рекомбінацію [13].

Враховуючи те, що зростання забруднення біосфери зумовлено значною мірою важкими металами, встановлено їхній вплив на вісім ліній TP, що опубліковано в попередній роботі [10]. Було підтверджено різну чутливість цих TP *Arabidopsis thaliana* до хімічних сполук. За ступенем генетичних ефектів солі важких металів склали ряд за активністю мутагенних ефектів: кадмій > кобальт > мідь > хром > нікель. На подібний розподіл

Таблиця 2. Частота рекомбінаційних явищ у трансгенних лініях рослин N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №1-8

Проростки трансгенних рослин	Число рекомбінаційних явищ в перерахунку на 30 рослин
N1DC4 по.651 контроль	30,71±2,51
N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №1	12,05±1,70*
N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №2	8,90±1,32*
N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №3	14,24±0,91*
N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №4	7,84±1,11*
N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №5	11,80±1,01*
N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №6	22,81±1,33
N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №7	8,33±0,82*
N1DC4 по.651 pMEX/SIR2 №8	9,72±1,10*

Примітка: * P<0,001

металів за ступенем токсичності у рослин *Allium сера* вказують інші дослідники [6].

З метою апробації можливості використання отриманих ТР, як модельного об'єкта, для тестування хімічних мутагенів у доквіллі випробувано шість ліній ТР *Arabidopsis thaliana* (Col-0 Bin AR/SiR-8; Col-0 BinAR/SiR-7; Col-0 pTA/SiR-2; Col-0 pTA/SiR-4; N1DC4 no.651 pMEX/SIR2 №2 і N1DC4 no.651 pMEX/SIR2 №4) чутливих та дві (BAR BinAR/RPD3-1; BAR BinAR/RPD3-9) нечутливі до вищеописаних мутагенів. За даними обласної СЕС у зразках ґрунтів серед загальної сукупності забруднювачів переважав хімічний фактор. У населених пунктах, де забиралися зразки ґрунтів, рівень радіоактивності був у межах допустимого. Встановлено схожість зразків за мікробіологічним складом. При пророщуванні ТР у досліджуваних ґрунтах міст Івано-Франківська, Коломиї

шення діаметра стебла, збільшення кількості відмерлих листків ($P < 0,005$). Враховуючи те, що зміни фенотипу не завжди достовірно відображали ступінь забруднення ґрунтів, було оцінено частоту явищ ІГР. Встановлено її залежність від інтенсивності забруднення. Незначну чутливість, як і в експерименті, виявили лінії BAR BinAR/RPD3-1 і BAR BinAR/RPD3-9. При пророщуванні насіння ТР Col-0 BinAR/SiR-8, Col-0 BinAR/SiR-7, Col-0 pTA/SiR-2 та Col-0 pTA/SiR-4 у зразках ґрунтів з різних міст, спостерігалися найбільш виражені зміни фенотипу та відновлення GUS-гена. Вивчення явищ ІГР довело неістотне збільшення кількості синіх плям у рослин N1DC4 no.651 pMEX/SIR2 №6, пророщених на ґрунтах міст Калуша та Коломиї порівняно з таким у N1DC4 no.651 pMEX/SIR2 №3 (табл. 3).

У останніх ТР виявлено сині плями у листочках та корінцях. Подібна зако-

Таблиця 3. Число рекомбінаційних явищ у різних лініях трансгенних рослин *Arabidopsis thaliana* в перерахунку на одну рослину ($M \pm m$)

Зразки ґрунтів	Лінії трансгенних рослин		
	N1DC4 no.651 контрольна	N1DC4 no.651 pMEX/SIR2 №2	N1DC4 no.651 pMEX/SIR2 №4
Івано-Франківськ №1	12,67±1,9	7,1±0,9*	5,6±0,2*
Івано-Франківськ №2	13,2±1,4	3,7±0,2*	4,7±0,3*
Бурштин №1	15,6±1,5	4,9±1,0*	6,5±0,7*
Бурштин №2	17,3±1,2	8,1±0,7*	5,7±0,5*
Коломия №1	12,4±1,2	3,8±0,2*	4,8±0,1*
Коломия №2	18,4±1,3	5,7±0,5*	4,9±0,2*
Калуш №1	12,5±0,9	2,9±0,2*	4,8±0,3*
Калуш №2	11,7±1,0	4,3±0,2*	3,9±0,1*

Примітка: * $P < 0,001$

виявлено істотні порушення росту і розвитку: затримка появи перших листків і формування розетки, змен-

номірність спостерігалася у ТР лінії N1DC4 no.651 pMEX/SIR2 №9, пророщених на ґрунтах м. Бурштина, де

ідентифіковано велику кількість явищ ІГР, виражених синіми плямами. Відмінності в розмірах рекомбінаційних секторів можуть бути маркерами інтенсивності забруднення. Великі сектори відповідають рекомбінаційним явищам, що виникають на ранніх стадіях розвитку рослин, а малі - на пізніх стадіях онтогенезу. Таким чином, з 8-ми досліджуваних трансгенних ліній *Arabidopsis thaliana* відібрано чотири, найбільш чутливі до хімічних мутагенів. Це дозволяє використовувати їх для визначення хімічних сполук у питній воді та ґрунтах з різних екологічних регіонів. Водночас виявлено дві лінії (N1DC4 no.651 pMEX/SIR2 №2 і N1DC4 no.651 pMEX/SIR2 №4), стійкі до хімічних чинників.

Висновки

Методом агробактеріальної трансформації отримано ТР *Arabidopsis thaliana* з генами RPD3, SIR2 та SU(VAR) 3-7 і проведено їхнє тестування на чутливість до різних концентрацій хімічних мутагенів. Виявлено незначне зменшення явищ ІГР під впливом MMS, MN, MNU, дексаметазону та підвищену чутливість проростків ТР до мітоміцину С. При пророщуванні насіння ТР ліній Col-O BinAR/SIR2-8, Col-O BinAR/SIR2-7, BAR BinAR/RPD3-1, BAR BinAR/RPD3-9, N1DC 4 no.651 pTA/SIR2-2, N1DC 4 no.651 pTA/SIR2-3, N1DC 4 no.651 pMEX/SIR2-2, N1DC 4 no.651 pMEX/SIR2-4 у зразках ґрунтів із хімічно забруднених зон (міста Івано-Франківськ, Калуш, Бурштин), встановлено виражені зміни фенотипу та зменшення частоти відновлення GUS - гена порівняно з контролем. Дві лінії ТР (N1DC 4 no.651 pMEX/SIR2-2 і N1DC 4 no.651 pMEX/SIR2-4), в яких не

виявлено підвищення числа ІГР під впливом хімічних мутагенів, можуть використовуватися в подальших експериментах для отримання генетично модифікованих рослин, стійких до хімічних сполук.

Перспективи подальших досліджень полягають в розробленні технологій отримання ТР з іншими візуальними генами-маркерами: люциферази (LUC), зеленого фосфорилуючого протеїну [14].

Автори висловлюють щирі подяки професору Х. Пухті за надання насіння ТР, консультативну допомогу та можливість виконання молекулярно-генетичних досліджень в інституті генетики рослин (Гатерслебен, Німеччина).

Перелік літератури

1. Сердюк А. М., Тимченко О. І., Гойда Н. Г., Турос О. І., Галаган В. О. та Ін. Генфонд і здоров'я населення: методологія оцінки ризику від мутагенів довкілля /- К.: ІГМЕ АМН України, 2003. - 191с.
2. Барилляк І. Р., Дуган О. М. Еколого-генетичні дослідження в Україні // Цитологія і генетика. - 2002. - № 5. - С.3-5.
3. Kovalchuk I., Kovalchuk O., Hohn V. Transgenic plants as bioindicators of environmental pollution / AgBiotechNet. - 1999. - Vol. 1. - October, ABN 030. - P. 1-6.
4. Kovalchuk O., Kovalchuk I. Kovalchuk L. Evaluation of the genotoxicity of soils contaminated as a result of Chernobyl accident, using the *Allium cepa*, chromosome aberrations test // Mut. res. - 1998. - Vol. 415, № 1/2. - P. 47-55.
5. Куцоконь Н. К., Безруков В. Ф., Лазаренко Л. М., Рашидов Н. М., Гродзинський Д. М. Кількість аберацій на аберагентну клітину як параметр хромосомної нестабільності. // Цитологія і генетика. - 2003. - №4. - С. 20-25.
6. Довгалюк А. И., Калиняк Т. Б., Блюм Я. Б. Оценка фито- и цитотоксической активности соединений тяжелых металлов и алюминия с помощью корневой апикаль-

- ной меристемы лука // Цитология и генетика. - 2001. - № 1. - С. 3-9.
7. Глеба Ю. Ю. Не тільки науковий пошук, а й стратегія патентування // Вісник НАН України. - 2002. - № 12. - С. 5-15.
 8. Антипенко Е. Н., Когут Н. М. Интенсивность мутагенного процесса у населения городов с различным уровнем химического загрязнения атмосферного воздуха (по материалам изучения врожденных пороков развития) // Докл. АН СССР 1991. - Т. 321, №1. - С. 206-209.
 9. Fulton T., Chungwanse J., Tanksley S. Micro prep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbarcons plant // Plant Mol. Biol. Rep. - 1995. - Vol. 13. - P. 207-209.
 10. Орел Н. О., Ковальчук Л.Є. Клонування конструкцій ген в SIR2, RPD3, та отримання трансгенних ліній *Arabidopsis thaliana* для тестування хімічних мутагенів // Вісник Львів. Ун-ту. Серія біологічна. - 2003. - №34. - С.128-134.
 11. Орел Н. О. Вплив генів-регуляторів хроматинової структури на стабільність рослинного геному // Наукові записки Тернопільського педагогічного інституту. Серія: Біологія. - 2000. - № 3 (10). - С. 31-35.
 12. Takano M., Egawa H., Ikeda J., Wakasa K. The structures of integration sites in transgenic rice // Plant J. - 1997. - Vol. 11. - P. 353-361.
 13. Mayerhofer R., Koncz-Kalman Z., Nawarath C., Bakkeren G. T-DNA Integration: a mode of illegitimate recombination in plants // EMBO J. - 1991. - V.10. - P. 697-704.
 14. Haselhoff R. Applications of green fluorescent protein in plants // PMB. - 1996. - P. 34-38.

Представлено Л. Л. Лукаш
Надійшла 21.02.2005 р.

ТРАНСГЕННЫЕ РАСТЕНИЯ КАК МОДЕЛЬНЫЙ ОБЪЕКТ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ МУТАГЕННОГО ФОНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Л.Е Ковальчук, Н.О. Орел

Ивано-Франковская государственная медицинская академия
76000, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2
тел. 2-42-95

Разработана методология получения трансгенных линий растений (ТР) *Arabidopsis thaliana* с генами RPD3, SIR2, SU(VAR) 3-7, которые регулируют структуру хроматина. Создано конструкции этих генов с векторами pMEX, pTA7002, BinAR. Гистохимическим анализом на реставрацию β -глюкуронидазного гена выявлено незначительное уменьшение частоты интрахромосомной гомологической рекомбинации под влиянием MMS, MN, MNU, дексаметазона и повышенную чувствительность проростков ТР к митомицину С. Обгрунтовано использование полученных ТР, чувствительных к химическим факторам, как модельного объекта, для повышения эффективности тестирования мутагенов окружающей среды.

Ключевые слова: трансгенные растения, *Arabidopsis thaliana*, GUS-гены, гомологическая рекомбинация, химические мутагены.

TRANSGENIC PLANTS AS A MODEL OBJECT FOR ESTIMATION OF INTENSITY OF ENVIRONMENTALMUTAGENIL BACKGROUND

L. E. Koval'chuk, N. O. Orel

Ivano-Frankivsk Medical State Academy,
76000, Ivano-Frankivsk, Galyska str., 2
tel.: 2-42-95

The methodology developing of 25 transgenic plant lines (TP) of *Arabidopsis thaliana* were given. Three genes, which regulating chromatin structure and taking part in homologous recombination (RPD3, SIR2, SU(VAR)3-7) were mapped and cloned in vectors pMEX, pTA7002 and BinAR. Histochemical analysis for restoration of functional β -glucuronidase gene reveals insignificant reduction of the phenomena inrtachromosome homologous recombination under treatment with MMS, MN, MNU, dexametason and the raised sensitivity of TP to the Mitomycin C. It is substantiated using of received sensitive to chemical factors transgenic lines, as modelling object, for increase of efficiency of testing mutagenes an environment.

Key words: transgenic plants *Arabidopsis thaliana*, GUS-genes, homologous recombination, chemical mutagenes.

УДК 631.52:635.65УДК 616-03971+551.510.42+577.21

РОЗРОБКА ПРОФІЛАКТИКИ НЕГАТИВНОГО ВПЛИВУ МУТАГЕННИХ ЧИННИКІВ НА СПАДКОВИЙ АПАРАТ ЛЮДИНИ

Р. В. КОЗОВИЙ

Івано-Франківська державна медична академія
76000, м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2, тел. 2-42-95

Розроблено моделі прогнозування основних демографічних показників (загальну народжуваність, коефіцієнт смертності немовлят, частоту ВВР та спадкових хвороб серед перинатально померлих) на основі даних тестування інтенсивності мутагенного фону. Проведено аналіз ефективності профілактики вживання фолієвої кислоти та природних адаптогенів за показниками функціонального стану геному вагітних (зниження мікроядерного індексу та кількості морфологічно змінених ядер відповідно в 1,2, 1,4 рази порівняно з контролем).

Ключові слова: фолієва кислота, функціональний стан генома, моделі прогнозування

Вступ. З розвитком науково-технічного прогресу в середовищі існування людини виявляється все більше речовин з мутагенною та канцерогенною активністю [1]. Комплексна взаємодія цих сполук створює реальну основу для наростання генетичного тягаря в популяціях і водночас змінює напрямок та інтенсивність природного добору [2]. Це підтверджують негативні демографічні показники (зменшення народжуваності, збільшення малюкової смертності та кількості генетично зумовлених патологій, зміни їхнього спектру), реальні цитогенетичні ефекти і як наслідок - погіршення загального стану здоров'я населення. Тому проблема науково-методичної бази визначення ризиків для здоров'я людини та навколишнього природного середовища від різних видів діяльності набуває особливої актуальності та лежить в основі медико-екологічної безпеки держави [3, 4].

Пріоритетні є дослідження з пошуку тест-систем, які дали змогу оцінювати сумарний вплив забруднювачів довкілля і мутагенів на загальний стан організму і функціонування його спадкового апарату [5, 6].

Поєднання генетичного моніторингу популяцій населення та біоіндикації мутагенів у різних тест-об'єктах (вищі рослини, людина) з враху-

ванням трьох рівнів організації спадкового апарату дає змогу верифікувати мутагенне навантаження на популяцію, що в свою чергу підвищує ефективність проведення профілактичних заходів з негативного впливу довкілля на спадковий апарат.

Метою дослідження була розробка методів прогнозування та профілактики негативних генетичних наслідків техногенного забруднення навколишнього середовища за допомогою комплексної системи, що включає генетичний моніторинг окремих популяцій населення Прикарпаття та інтенсивності мутагенного фону оціненого рослинними тест-об'єктами.

Матеріали і методи

Для розробки прогностичних моделей залежності основних демографічних показників від інтенсивності забруднення зовнішнього середовища використано дані попередніх досліджень генетичного тягаря популяцій, які проживають в різних екологічних зонах Прикарпаття та показники мутагенного фону досліджених за допомогою *Allium cepa*-тесту та трансгенних рослин *Arabidopsis thaliana* [7]. Статистичну обробку результатів та визначення кореляцій між показниками здійснено за допомогою комп'ютерної програми "Excel", що входить до складу пакету Microsoft office XP. Розробку прогностичних моделей залежності проведено на основі множинної регресії отриманих показників за формулою:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \times X_1 + \beta_2 \times X_2,$$

де Y - результат ознаки; X_1 та X_2 - фактори ознаки; β_0 - інтерсепта (ста-

лий коефіцієнт); β_1 та β_2 - вагові коефіцієнти кореляції.

З метою практичного застосування профілактичних заходів негативних генетичних ефектів забруднення довкілля було вибрано групу з 30 вагітних (мешканки м. Коломиї, Івано-Франківська область), які вживали фолієву кислоту по 0,4 мг щоденно протягом трьох місяців гестації. Ефективність лікування аналізували за активністю ФСГ та частотою МЯ.

Результати та обговорення

Для прогнозування генетичної небезпеки сумарного техногенного забруднення для наступних поколінь нами було проведено множинну регресію, яка дозволила отримати моделі залежності найбільш вагомих демографічних показників від стану спадкового апарату дітей та цито- і молекулярно-генетичних маркерів мутагенного пресингу. На основі відповідної формули розроблено модель залежності загальної народжуваності від частоти ХА у дітей та кількості явищ інтрахромосомної гомологічної рекомбінації у TP *Arabidopsis thaliana* лінії BAR Bin AR/RPD3-9.

$$\text{Загальна народжуваність} = 17,81 - 0,57 \times X_1 - 0,5 \times X_2,$$

де X_1 - частота рекомбінаційних явищ у TP *Arabidopsis thaliana* лінії BAR Bin AR/RPD3-9; X_2 - частота ХА у дітей. При цьому було встановлено сумарний вплив (R^2) X_1 та X_2 на загальну народжуваність та коефіцієнт множинної кореляції (R). Оскільки вони становили $R^2 - 92,40\%$ та $R - 0,96$, то дана модель може бути рекомендована для прогнозування загальної народжува-

ності при комплексних дослідженнях інтенсивності забруднення довкілля.

Враховуючи те, що тестування за допомогою трансгенних рослин матеріально обтяжливе і не може бути використано у будь-яких лабораторіях, наступна прогностична модель базувалася на показниках активності проростання насіння *Allium sera* у співвідношенні з коефіцієнтом смертності немовлят.

Коефіцієнт смертності немовлят = $27,33 + 1,3 \cdot X_1 - 0,35 \cdot X_2$,

де X_1 - МІ рослин *Allium sera*, пророщених на досліджуваних зразках води; X_2 - МІ рослин *Allium sera*, пророщених на досліджуваних зразках ґрунтів. При цьому R^2 дорівнював 96,78%, а R - 0,98, що також вказує на прикладне значення математичної моделі.

Для розробки наступної модельної залежності було вибрано показники, між якими визначено сильні кореляції ($r = -0,966$; $-0,903$): частоту ВВР та спадкових хвороб серед перинатально померлих, ХА у дітей із досліджуваних районів та кількість ХА у рослин *Allium sera*, пророщених на досліджуваних зразках води. Нами отримано наступну залежність:

Частота ВВР та спадкових хвороб серед перинатально померлих = $27,33 + 1,3 \cdot X_1 - 0,35 \cdot X_2$;

де X_1 - частота ХА у дітей з досліджуваних територій; X_2 - частота ХА у рослин *Allium sera*. Проведений підрахунок множинної кореляції довів високий рівень залежності частоти ВВР та спадкових хвороб серед перинатально померлих від частоти ХА ($R^2 = 98,1\%$ та $R = 0,99$).

Отримані моделі дають змогу прогнозувати важливі демографічні показники (загальна народжуваність, коефіцієнт смертності немовлят, частоту ВВР та спадкових хвороб серед перинатально померлих) залежно від ступеня забруднення довкілля.

З метою практичного втілення одного з рекомендованих заходів профілактики ВВР - вживання фолієвої кислоти, досліджено 30 вагітних жінок, які проживають на території з підвищеним рівнем забруднення. Всі вони знаходились на обліку в жіночій консультації з приводу загрози передчасного переривання вагітності. На кожну обстежувану жінку заводили карту генетичного обстеження вагітної, яка включала в себе, окрім паспортної частини та діагнозу, запитання про професійні шкідливості, проблеми з попередніми вагітностями та відомості про дітей.

При аналізі даних анкетування встановлено, що у 47% жінок ця вагітність була першою. 67% з повторно вагітних мали проблеми протягом попередніх вагітностей (в анамнезі МВ чи переривання вагітності). 10% обстежуваних народжували дітей з відхиленнями у фізичному або розумовому розвитку. 33% опитаних мають контакти з шкідливими професійними чинниками (хімічними чи фізичними).

Лікарями жіночої консультації було призначено комплексне лікування всім обстеженим згідно їх діагнозів. Після цього нами було розділено вагітних на дві групи. Першу з них склали 20 жінок, які поряд із призначеною терапією вживали фолієву кислоту по 0,4 мг щоденно протягом трьох місяців гестації та різноманітні продукти харчування, що містять вітамінні ком-

плекси (броколі, шпинат, петрушка, кріп, капуста, морква, буряк, грейпфрут, гранат, цибуля та інші). 10 вагітних увійшли в контрольну групу, які не приймали фолієву кислоту.

Ефективність проведеного лікування оцінювали за змінами показників ФСГ. Індекс хроматизації вираховували за співвідношенням кількості еухроматинових ядер до гетерохроматинових. Також підраховували кількість клітин з ядерцями, статевим хроматином та морфологічно зміненими ядрами (табл. 1).

лоту, ідентифіковано суттєве зниження МЗЯ в 1,4 рази ($p < 0,01$). До лікування в епітеліоцитах СОПР спостерігалася велика кількість вакуолізованих ядер, у деяких з них відмічались глибокі інвагінації каріолеми, скупчення гетерохроматину. А у деяких ядрах виявляли порушення цілісності каріолеми та формування окремих сегментів. Після комплексної терапії більшість ядер містили дифузний хроматин, в багатьох з них чітко визначалися грудочки статевого хроматину.

Для більш об'єктивної оцінки ефек-

Таблиця 1. Цитологічні показники епітеліоцитів слизової оболонки порожнини рота обстежених вагітних до лікування (А) та після лікування (Б), $M \pm m$

Показники	Контрольна група		Досліджувана група	
	А	Б	А	Б
Індекс хроматизації, ум. од	0,72±0,03	0,74±0,06	0,71±0,02	0,75±0,07
Ядерцевий індекс, %	4,51±0,51	4,56±0,42	4,45±0,26	4,58±0,23
Статевий хроматин, %	23,06±0,77	23,89±0,56	4,45±0,26	24,32±0,69
Морфологічно змінені ядра, %	7,31±0,65	6,09±0,71	7,56±0,84	5,42±0,41*

Примітка: * $p < 0,01$ порівняно з показниками контрольної групи

Як видно з даних таблиці, проведене лікування у жінок контрольної групи зумовило збільшення ІХ у 1,04 рази. Водночас цей показник у вагітних, що вживали фолієву кислоту, переважав вихідні дані в 1,06 рази. ЯІ не зазнав значущих змін у всіх обстежуваних, тобто активність синтезу рибосомальних генів залишалася стабільною. Контроль експресії генів був істотнішим у пацієнток досліджуваної групи, що засвідчило зростання показника СХ. Достовірних змін під впливом лікування зазнали компоненти ядерного апарату. У жінок з традиційною терапією зареєстровано зменшення частоти патологічних ядер в 1,2 рази. У вагітних, що приймали фолієву кис-

тивності використання профілактичних середників, вивчено частоту мікроядер в епітеліоцитах СОПР. Встановлено, що у вагітних сумарний показник мікроядер дорівнював $1,17 \pm 0,46$ до і $0,99 \pm 0,30$ після лікування (рис. 3.21). В групі жінок, які приймали з профілактичною метою фолієву кислоту, зниження частоти мікроядер в епітеліоцитах СОПР було більш істотним, ніж у контрольній групі.

Так, до лікування кількість мікроядер складала відповідно $1,18 \pm 0,51$ та $1,16 \pm 0,42$, а після проведеного лікування $0,91 \pm 0,31$ та $1,08 \pm 0,28\%$.

Виявлені мікроядра забарвлювалися за Фольгеном так само інтенсивно, як каріолазма ядра. Вони ло-

калізувались на відстані 4-7 мкм від останнього. Після лікування МЯ вдавалось зафіксувати на окремих препаратах епітеліоцитів СОПР

Достовірне зниження частоти МЗЯ та МЯ після проведеного курсу лікування свідчить про нормалізацію репаративних процесів в організмі вагітних (Рис. 1).

Висновки

1. Розроблено три моделі залежності деяких демографічних показників від даних тестування інтенсивності мутагенного фону: 1) модель залежності народжуваності від частоти ХА у дітей та кількості явищ інтрахромосомної гомологічної рекомбінації у

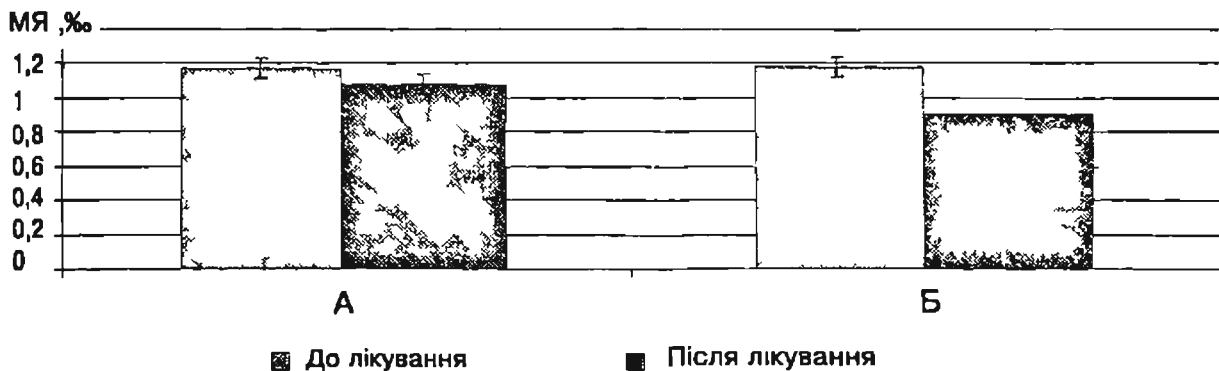


Рисунок 1. Мікроядерний показник (‰) епітеліоцитів слизової оболонки порожнини рота у обстежуваних вагітних контрольної (А) та досліджуваної (Б) груп

Таким чином, вживання фолієвої кислоти та продуктів харчування з високим вмістом вітамінів активують біосинтетичні процеси на клітинному рівні, сприяють нормалізації мітотичного циклу. Першочергово посилюється експресія генів через ініціацію транскрипції, на що вказує збільшення індекса хроматизації. Водночас регуляторні механізми оперативніше спрацьовують під впливом фолієвої кислоти. Варто зазначити, що найбільш позитивні зміни встановлено з боку складових компонентів ядра. Зменшення інвагінацій каріолеми дає змогу приєднатися периферійному хроматину, у ДНК якого ініціюється розкручування подвійної спіралі. Це може бути першим етапом і реплікації, і репарації ДНК.

ТР *Arabidopsis thaliana* лінії BAR Bin AR/RPD3-9; 2) модель залежності коефіцієнту смертності немовлят від мітотичної активності *Allium cepa*; 3) модель залежності частоти вроджених вад розвитку та спадкових хвороб серед перинатально померлих від кількості хромосомних аберацій у дітей із досліджуваних районів та хромосомних аберацій у рослин *Allium cepa*, пророщених на досліджуваних зразках води.

2. Проаналізовано ефективність профілактики вживання фолієвої кислоти та природних адаптогенів за показниками функціонального стану геному вагітних (зниження мікроядерного індексу та кількості морфологічно змінених ядер відповідно в 1,2, 1,4 рази порівняно з контролем).

Перелік літератури

1. *Бариляк І. Р., Дуган О. М.* Еколого-генетичні дослідження в Україні // Цитология и генетика. - 2002. - № 5. - С.3-5.
2. *Ковальчук Л. Є.* Генетичну катастрофу людства можуть спричинити екологічні негаразди // Ваше здоров'я. - 2002. - №4. - С.32.
3. *Сердюк А. М.* Медична екологія і проблеми здоров'я дітей // Журн. АМН України. - 2001. - Т. 7, №3. - С.437-449.
4. *Горова А. І.* Методичні аспекти оцінки генетичних наслідків техногенезу // Екологія і природокористування: Зб. наукових праць. - Дніпропетровськ. - 2001. - Вип. 3. - С.143-151.
5. *Гречанина О. Я.* Перспективи розвитку клінічної генетики в Україні // Журн. АМН України. - 2003. - Т.9, №4. - С. 668-680.
6. *Тимченко О. І., Сердюк А. М., Турос О. І.* Гігієна довкілля: політика, практика, перспективи. Деякі аспекти методології оцінки впливу чинників довкілля. - К.: Греса України, 2000. - С. 26-49.
7. *Ковальчук Л. Е., Козовий Р. В., Орел Н. О., Кочерга З. Р.* Разработка и внедрение комплексной тест-системы для оценки экогенетических эффектов ионизирующей радиации // Матер. II Междун. науч.-практ. конф. "Медицинские и экологические эффекты ионизирующего излучения". - Томск. - 2003. - С. 94-96.

*Представлено Л. Л. Лукаш
Надійшла 21.02.2005 р.*

**РАЗРАБОТКА ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ
МЕРОПРИЯТИЙ НЕГАТИВНОГО ВЛИЯНИЯ
МУТАГЕННЫХ ФАКТОРОВ НА
НАСЛЕДСТВЕННЫЙ АППАРАТ ЧЕЛОВЕКА**

Р. В. Козовый

Ивано-Франковская государственная
медицинская академия
76000, г. Ивано-Франковск, ул. Галицкая, 2,
тел. 2-42-95

Разработано модели прогнозирования основных демографических показателей (общую рождаемость, коэффициент смертности новорожденных, частоту врожденных пороков развития и наследственных болезней среди перинатально умерших) на основе данных тестирования интенсивности мутагенного фона.

Проведено анализ эффективности профилактики употребления фолиевой кислоты и природных адаптогенов по показателям функционального состояния геному беременных (снижение микроядерного индекса и количества морфологично измененных ядер соответственно в 1,2, 1,4 раза в сравнении с контролем).

Ключевые слова. фолиевая кислота, функциональное состояние генома, модели прогнозирования.

**ELABORATION OF PROPHYLAXIS OF THE
NEGATIVE EFFECT OF MUTAGENIC AGENTS
ON THE HUMAN HEREDITARY APPARATUS**

P. V. Kozovyi

Ivano-Frankivsk State Medical Academy
76000, Ivano-Frankivsk, Galytska, 2,
tel.: 2-42-95

Models of forecasting of the basic demographic indexes (common birth rate, newborn mortality rate coefficient, frequency of development inherent defects and hereditary illnesses among perinatal died) on the basis of test's date of intensity mutagenic background are developed.

The analysis of efficiency of prophylaxis of the treat of Acidum folicum and natural adaptogens behind indexes of a genom's function state of the pregnant women (drop of a micronuclear index and amount of morphologically changed nucleuses accordingly in 1,2, 1,4 times in comparison with the control) is carried out.

Key words: Acidum folicum, genom's function state, models of forecasting.

УДК 635.64:631.527:575.2

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МУТАНТНЫХ ГЕНОВ АКТИВИЗИРУЮЩИХ БИОГЕНЕЗ β-КАРОТИНА В ПЛОДАХ ТОМАТА

А.В. КУЗЁМЕНСКИЙ

Институт овощеводства и бахчеводства УААН
62478, Харьковская область, п/о Селекционное,
e-mail: ovoch@intercomplect.kharkov.ua

Рассматривается возможность практического использования мутантных генетических комплексов активизирующих биогенез β-каротина в плодах томата. Показано, что за счет сочетания эффектов двух мутантных генов в гомозиготах BB/dgdg и BB/hphr возможно добиться значительного увеличения содержания β-каротина и ликопина. Ключевые слова: томат, мутантные гены, окраска плода, гетерозис, гибрид F₁

Введение. В последнее время всё более широкое применение получают витамины как средство специфической терапии разнообразных патологических процессов. В связи с этим необходимо отметить антиинфекционное действие провитамина А - β-каротина. Важное значение имеет также применение β-каротина для лечения ожогов, обморожений, гнойных ран. По содержанию β-каротина выделяют такие овощные растения как тыква, листовые овощи, морковь, перец в биологической спелости и томат. Учитывая уровень содержания β-каротина в плодах, а также частоту потребления в пищу как в свежем так и переработанном виде, к существенным источникам β-каротина следует отнести томат. Из литературных источников [1] известно, что красноплодные сорта содержат в среднем 0,12-0,15 мг β-каротина в 100 г сырой массы, а оранжевоплодные в 5-10 раз больше. Однако необходимо отметить, что не все оранжевоплодные формы томата обладают повышенным содержанием β-каротина. Так, из известных оранжевоплодных мутаций - *t*, *B*, *at*, *sh*, лишь ген *B* обеспечивает повышение β-каротина, и имеет реальную практическую ценность для улучшения биохимического состава плодов томата. Формы с геном *B* (и его аллелем *B^m*), в результате замещения ликопина β-каротином имеют оранжевую и красно-оранжевую окраску зрелых плодов. Несмотря на внешнее сходство, влияние указанных генов оранжевоплодности весьма специфично, и даже при идентичном фенотипе, переопределение биохимических компонентов происходит совершенно по-разному. Так,

© А. В. КУЗЁМЕНСКИЙ, 2005

оранжевая окраска плодов мутантных форм с геном *t*, обусловлена присутствием ζ -каротина и проликопина, которые с биологической точки зрения имеют минимальную ценность для питания человека. Визуально гены *B* и *t* не различимы.

Мутантный ген *B* является ярким примером того как способствуя расширению спектра популяционной изменчивости, мутационные изменения порой выходят за пределы видового разнообразия, расширяя рамки варьирования признака, сдвигая верхний предельный уровень его проявления. Так, использование гена *B* позволило более чем в 10 раз увеличить содержание β -каротина в плодах культурных форм томата. В настоящее время с участием этого гена получено богатое разнообразие сортов - *Raso-Orange*, *Carobeta*, *Auriga*, *Слава Молдовы*, *Дружба*, *Луч*, *Очарование*, *Алета*, *Зеро*, *Барон*, *Лавина*, *Мечта*, *Сяйво*, *Лагоранж*, *Оранжевое чудо* и др. Однако все они имеют близкий процентный уровень содержания β -каротина - 0,9-1,8 мг/%, который лимитирован верхним пределом экспрессии гена *B*. В тоже время, мы полагаем, что этот уровень далеко не исчерпывает возможности культуры и может быть увеличен за счет влияния других генов сходного действия к категории которых следует отнести гены серии *high pigment* (гены высокой пигментации плодов и листьев) - *hp-1* (и его аллель *hp-1^w*), *hp-2* (*hp-2l*) и *dg*, которые также активизируют биогенез β -каротина в плодах томата. В этой связи нами начаты исследования по изучению неаллельного биохимического эффекта совместного проявления генов - *B*, *hp* и *dg*. И установления эффективности их

дальнейшего использования в селекционной практике для создания сортов диетического и лечебно-профилактического действия.

Материалы и методы

Исходным материалом для проведения исследований послужили сорта и линии коллекции лаборатории селекции пасленовых культур Института овощеводства и бахчеводства УААН. Для проведения исследований были подобраны идентифицируемые мутантные гены *B*, *hp* и *dg*, которые согласно информации Центра генетических ресурсов томата (TGRC, США) представленной на страницах web сайта (<http://tgrc.ucdavis.edu/>), а также согласно данным целого ряда исследователей [2-15], оказывают положительное влияние на биогенез β -каротина. В качестве источников мутантного гена *dg* были использованы образцы *Manara* и *Dark Green* полученные из Центра генетических ресурсов томата (TGRC, США). Ген *dg* получен путем искусственного мутагенеза [11]. Источниками гена *hp* послужили формы - *Morioka-20*, *Morioka-17*, *Morioka-15* полученные от Т. Mochizuki (Япония), а также линии коллекции Центра генетических ресурсов томата (TGRC, США) - *Mo 112* и *T-3627*. По данным Е.А.Керр [7] ген *hp* отобран из спонтанной мутации. В качестве источников гена *B* использовали сорта - *Auriga*, *Дружба*, *Очарование*, *Зеро*, *Барон*. Ген *B* получен путем интрогрессии из диких видов *L. hirsutum* Humb. et Bonpl. и *L. minutum*, в которых он не проявляет своего действия [13-15].

Схему размещения селекционных питомников, получение гетерозисных гибридов и оценку основных хозяйст-

венно-ценных признаков растений осуществляли согласно общепринятым методическим рекомендациям и разработок ВИР, ВАСХНИЛ [16, 17]. В гибридных популяциях F_2 - F_3 проводили индивидуальную оценку за комплексом качественных и количественных признаков, отбирая для дальнейшей работы наиболее перспективные мутантные генотипы. При этом основное внимание отводилось сочетанию мутантных признаков с набором желательных количественных показателей, таких как - масса плода, продуктивность, скороспелость, выравненность плодов по форме и массе, их плотность, интенсивность окраски, устойчивость против растрескивания и перезревания.

Определение содержания β -каротина осуществляли по методике В.К. Андрищенко [18]. Биохимические анализы проведены в аккредитова-

нной лаборатории аналитических измерений ИОБ УААН, аттестат аккредитации № 100-0919/2002.

Статистическую обработку данных проводили по методике Б.А. Доспехова [19] с помощью "пакета прикладных программ обработки результатов селекционных и генетических экспериментов" Института растениеводства им. В Я Юрьева и математических программ Института овощеводства и бахчеводства УААН.

Результаты и обсуждение

Нами проведена серия скрещивания между источниками генов *B*, *hp* и *dg* в гибридных популяциях F_2 были отобраны генотипы содержащие двойные гомозиготы *BB/hphp* и *BB/dgdg*. На следующий год в гибридном питомнике F_3 была проведена оценка содержания в плодах β -каротина. Исследования в данном направлении,

Таблица . Содержание β -каротина в плодах сортов и линий томата

Сорт, линия	Генотип	Содержание β -каротина, мг/%
Очарование	<i>B</i>	0,91
Дружба	<i>B</i>	0,96
Барон	<i>B</i>	0,92
Зеро	<i>B</i>	0,91
Auriga	<i>B</i>	1,17
Manapal	<i>dg</i>	0,48
Dark Green	<i>dg</i>	0,68
T-3627	<i>hp</i>	0,27
Morioka-20	<i>hp</i>	0,32
Morioka-17	<i>hp</i>	0,40
Mo 112	<i>hp</i>	0,38
№ 67 F_3 (Дружба x Dark Green)	<i>B, dg</i>	4,63
№ 68 $^{1/2} F_3$ (Дружба x Dark Green)	<i>B, dg</i>	3,00
№ 68 $^{2/2} F_3$ (Дружба x Dark Green)	<i>B, dg</i>	3,58
№ 70 F_3 (Очарование x Dark Green)	<i>B, dg</i>	4,25
№ 71 F_3 (Manapal x Барон)	<i>B, dg</i>	3,12
№ 80 F_3 (Manapal x Зеро)	<i>B, dg</i>	3,22
№ 92 F_3 (Auriga x Dark Green)	<i>B, dg</i>	2,66
№ 72 $^{1/3} F_3$ (Дружба x T-3627)	<i>B, hp</i>	1,64
№ 72 $^{2/1} F_3$ (Дружба x T-3627)	<i>hp</i>	0,18
№ 72 $^{1/1} F_3$ (Дружба x T-3627)	<i>B</i>	0,92
НСР _{0,5}		0,12

позволили установить, что за счет объединения гена *B* с мутантным геном - *dg*, возможно еще более поднять уровень β -каротина, увеличив его содержание более чем в 30 раз. Так, если обычные красноплодные сорта томата содержат в среднем 0,12-0,15 мг/% β -каротина, то отобранная нами линия № 67 F_3 (Дружба х Dark Green), содержащая двойную гомозиготу *BB/dgdg*, имела содержание β -каротина на уровне 4,63 мг/% (табл.). Это позволяет утверждать, что гены *B* и *dg*, повышающие содержание β -каротина в плодах томата при совместном проявлении, действуют адитивно усиливая фенотипический эффект друг друга, что дает возможность еще более увеличить содержание данного пигмента.

Как видно из данных таблицы у группы линий с одноименным аллельным состоянием - *BB/dgdg*, довольно четко прослеживается индивидуальные отличия по содержанию β -каротина. В этом четко прослеживается влияние полигенного комплекса, который в определенной мере нивелирует действие данной двойной гомозиготы. И уже сам факт существования подобного нивелира свидетельствует о возможности дальнейшего повышения содержания β -каротина, у носителей двойной гомозиготы за счет подбора генотипов рекуррентных отцовских форм и поиска трансгрессивных форм в F_2 - F_3 .

В особенности четко это прослеживается на примере линий № 68 $1/2$ и № 68 $2/2$, которые являются потомством одного суперэлитного растения (отобранного в F_2). Однако преимущество мутантных генов в том, что, несмотря на присущее любым генотипам варьирование признаков, в за-

висимости от генетического фона и агроклиматических условий выращивания, они обеспечивают стабильно фиксированный, более высокий уровень контрольного признака, по сравнению с обычными красноплодными сортами. Так, генотип *BB*, на любом агрофоне, при любых погодных условиях и на любом генетическом (полигенном) фоне количественных признаков, за исключением влияния других альтернативных генов, которые модифицируют проявление гена *B* (ген *mo+*), обеспечит значительно более высокий уровень β -каротина в плодах, чем обычные генотипы без его участия. Аналогично комплекс генов *BB/dgdg*, обеспечивает еще более высокий биогенез β -каротина, на фоне простой гомозиготы гена *B*.

Подобное проявление характерно и для двойной гомозиготы *BB/hphp*. Так, из гибридной популяции F_3 № 72 (Дружба х Т-3627), нам удалось отобрать три изогенные линии, которые, являясь потомством одного растения, были достаточно выровнены по морфо-биологическим признакам и имели визуальные различия лишь по окраске плода, т.е. наличию генов *B* и *hp*. Сравнение трех изогенных линий - *BB/hphp*, *BB* и *hp*, позволило нам установить, что гомозигота *BB* на фоне изогенной гомозиготы *hp/hp* имеет значительно более высокое содержание β -каротина на 511 %, то есть более чем в 5 раз, хотя согласно данных литературы [2, 4, 7, 20, 21] ген *hp*, также способствует повышению синтеза каротиноидов. При этом, ген *hp*, повышал содержание сухого вещества на 9 % (по относительной величине), общих сахаров 13 %. В двойной гомозиготе содержание β -каротина оказалось еще более высоким - 1,64

мг/%, против 0,92 мг/% в лучшей гомозиготе (*B/B*), то есть четко прослеживается аддитивное действие генов *B* и *hp*, аналогично действию генов двойной гомозиготы *BB/dgdg*. Относительно других компонентов биохимического состава: содержание сухого вещества, общего сахара, аскорбиновой кислоты и общей кислотности - двойная гомозигота *BB/hphp* проявляет действие типичное простой гомозиготе *hp/hp*.

Известно [20], что ген *hp* влияет на синтез красного пигмента - ликопина. К сожалению, его процентное содержание в исследуемых линиях не изучалось, однако о количестве ликопина в плодах исследуемых генотипов можно судить косвенно по интенсивности красной окраски. Данное действие гена *hp* сохраняется в двойной гомозиготе *BB/hphp*, что придает плодам более красный оттенок. Данное действие гена *hp* значительно увеличивает товарную ценность плодов данной мутантной комбинации. Аналогично, ярко-красную окраску плодов обеспечивает и ген *dg*. Следует отметить, что данное положительное влияние генов серии High Pigment - *hp* и *dg*, сохраняется и в других генетических комбинациях. Примером могут служить двойные гомозиготы *hphp/alcalc* и *dgdg/alcalc*, которые также отличались значительно более насыщенной ярко-красной окраской плодов. Так, линия F_2 № 210 ^{1/8} (*T-3627* x *Неваляшка*) с генотипом *hphp/alcalc*, в отличие от родственной линии F_2 № 210 ^{2/7} (*T-3627* x *Неваляшка*) с простой гомозиготой по гену *alc*, при созревании имела значительно более ярко-красную мякоть плода и перикарпия, что существенным образом увеличивает практичес-

кую ценность лежких форм с геном *alc*, единственным недостатком которых есть пониженное содержание ликопина. Таким образом, любой из генов в данной гомозиготе действует дискретно, что в комплексе позволяет соединить высокую лежкость плодов (ген *alc*) с их нормальной красной окраской (ген *hp*).

Выводы

Использование мутантной изменчивости позволяет быстро и надежно увеличить уровень содержания таких биохимически-ценных компонентов плода, как β -каротин, ликопин, аскорбиновая кислота. С использованием методов качественной (мутантной) изменчивости, возможно решение проблем количественной (полигенной) изменчивости. Это подтверждает тот факт [7], что действие мутантных, альтернативных признаков, оказывается преобладающим, в том плане, что мутантная аллель перерывает эволюционно сформированную полигенную модель любого количественного признака, не позволяя реализовать имеющийся потенциал полигенной изменчивости.

Список литературы

1. Андрющенко В. К., Медведев В. В., Выродова А. П. Повышение содержания витаминов в плодах томатов. - Кишинёв: Штиинца, 1983. - 132 с.
2. Mochizuki T. Studies on lines with high-pigment genes as high vitamin C and carotenoid sources in tomato breeding // Bull. Veg. Orgnam. Crops Res. Stn. Ser. A. - 1995. - № 10. - P. 55-139.
3. Thompson A.E. Comparison of fruit quality constituents of normal and high pigment tomatoes // Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. - 1961. - V. 78. - P. 464-473.
4. Sayama H. Morphological and physiological effect associated with the crimson (*og^c*), high pigment (*hp*) and other chlorophyll

- intensifier genes in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // Ph. D. Thesis, Purdue Univ., West Lafayette, Indiana, USA. - 1979.
5. Kerr E.A. High pigment ratio // TGC Rep. - 1960. - V. 10. - 18 p.
 6. Thompson A.E., Hopley R.W. Clarification of the inheritance of high total carotenoid pigment tomatoes // Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. - 1962. - V. 81. - P. 433-442.
 7. Kerr E.A. Identification of high pigment "hp" tomatoes in the seedling stage // Can. J. Plant Sci. - 1965. - V. 45. - P. 104-105.
 8. Kerr E.A. Breeding of canny tomato 1909-1956 // Rep. Hort. Exp. Stn. and Proc. Lad. Vinelinds, Ontario, Canada, 1956. - P. 44-60.
 9. Kerr E.A. The dark red, *dr* and black shoulder, *bs* genes of Black Queen tomato // TGC Rep. - 1955. - V. 5. - 20 p.
 10. Thompson A.E. Further information of high total carotenoid pigment production of the variety Webb Special // TGC Rep. - 1956. - V. 6. - P. 30-31.
 11. Sanders D.C., Phare D.M., Konsler T.R. Chlorophyll content of Dark Green mutant of "Manapal" tomato // HortScience. - 1975. - V. 10. - P. 262-264.
 12. Thompson A.E. A Comparison of fruit quality constituents of normal and high pigment tomatoes // Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. - 1961. - V. 78. - P. 464-473.
 13. Tomes M.L., Quackenbush F.W., Nelson O.F., North B. The inheritance of carotenoid pigment system in the tomato // Genetics. - 1953. - Vol. 38 - P. 117-127.
 14. Tomes M. L., Quackenbush F. W., MacQuistan M. Modification and dominance of the gene governing formation of high concentrations of beta-carotene in the tomato // Genetics. - 1954. - Vol. 39, - P. 810-817.
 15. Tomes M. L., Quackenbush F. W., Kargl T.E. Action of the gene B in biosynthesis of carotenes in tomatoes // Bot. Gaz. - 1956. - № 117. - P. 248-253.
 16. Методические указания по селекции сортов и гетерозисных гибридов овощных культур. - Л.: ВИР, 1974. - 214 с.
 17. Методические указания по селекции сортов и гибридов томата для открытого и защищенного грунта. - М.: ВАСХНИЛ, 1986. - 112 с.
 18. Андрищенко В.К. Методы оптимизации биохимической селекции овощных культур. Кишинев: Штиинца, 1981.-128 с.

19. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. - М.: Колос, 1979. - 416 с.
20. Жученко А.А. Генетика томатов. Кишинев: Штиинца, 1973.- 664 с.
21. Куземенский А.В. Селекционно-генетические исследования мутантных форм томата. - Харьков, 2004. - 2004 с.

Представлено В. Г. Михайлов
Надійшла 11.02.2005 р.

ВЗАЄМОДІЯ МУТАНТНИХ ГЕНІВ АКТИВІЗУЮЧИХ БІОГЕНЕЗ β -КАРОТИНУ В ПЛОДАХ ТОМАТА

О.В. Кузьоменський

Інститут овочівництва і баштанництва УААН 62478, Харківська область, п/в Селекційне, e-mail: ovoch@intercomplect.kharkov.ua

Розглядається можливість практичного використання мутантних генетичних комплексів активізуючих біогенез β -каротину в плодах томата. Показано, що за рахунок поєднання ефектів двох мутантних генів в гомозиготах *BB/dgdg* и *BB/hphp* можливо добитися значного підвищення вмісту β -каротину і лікопіну.

Ключові слова: томат, мутантні гени, забарвлення плоду, гетерозис, гібрид F_1 .

INTERACTION OF MUTANT GENES, MAKING MORE ACTIVE BIOGENESIS OF β -CAROTENE IN TOMATO FRUITS

A.V. Kuzemenskiy

Institute of Vegetables and Melons UAAS, 62478, Kharkov rg. P.O. Selectionnoye, e-mail: ovoch@intercomplect.kharkov.ua

The possibility of practical use of mutant genetic complexes, which make more active biogenesis of β -carotene in tomato fruits is examined. There is shown that owing to combination of two mutant genes effects in *BB/dgdg* and *BB/hphp* homozygotes it is possible to achieve significant increase of β -carotene and lycopene content.

Key words: tomato, mutant genes, fruit's colour, heterosis, F_1 hybrids.

УДК 575.224.045

ЗАСТОСУВАННЯ ПРИРОДНИХ СОРБЕНТІВ ДЛЯ ЗМЕНШЕННЯ МУТАГЕННИХ ФОНІВ РІДКИХ ТОКСИЧНИХ СТОКІВ З ПІДПРИЄМСТВ РІЗНИХ ГАЛУЗЕЙ ПРОМИСЛОВОСТІ В ТЕСТІ ЕЙМСА

О. М. РЕВЕГА, Л. С. БОДНАР, М. В. ДУБОВИЦЬКА, М. М. СТУХЛЯК,
С. М. ГОРБУЛІНСЬКА

Львівський національний університет імені Івана Франка, біологічний факультет
79005, м. Львів, вул. Грушевського, 4

E-mail: o_reveha@franko.lviv.ua

Подані результати доцільності застосування природних сорбентів (глауконітів, цеолітів, трепелів, активованого вугілля) та синтетичних іонообмінних смол КУ 2-8 для зняття або зменшення мутагенних фонів рідких токсичних відходів з підприємств хімічної, нафтопереробної та целюлозо-паперової галузей промисловості.

Ключові слова: сорбент, генні мутації, мутагенність, хімічний мутагенез, Salmonella typhimurium, стічні води, генотоксикологія

Вступ. Промислові стічні води є основними джерелами потрапляння у відкриті водойми канцерогенних, мутагенних і токсичних сполук. На сьогоднішній день в Україні та в світовій практиці для очищення стоків на промислових підприємствах проводять фільтрацію через дюни з порошкоподібним активованим вугіллям та через піщані дюни [1]. В основному промислові води при цьому способі очистки очищаються від завислих частинок. Проте відомо, що підприємства хімічної промисловості та суміжних галузей дають близько 79% небезпечних відходів [2]. До них відносять епоксиди, етилен аміни, алкілсульфати, лактони, сульфони та інші, які є джерелами введення в молекулу ДНК алкільних радикалів. Стічні води з підприємств нафтопереробної промисловості теж володіють мутагенною активністю. Серед хімічних сполук, які присутні у стоках, слід відмітити нафтонові кислоти і їх солі, феноли, бензол, толуол, етиловані нафтопродукти, тетраетилсвинець, 3,4-бензопірен [3]. Стічні води целюлознопаперової промисловості містять велику кількість галогенованих органічних сполук [4,5]. Ці речовини відрізняються високою токсичністю і проявляють значну стійкість до біологічної та хімічної деградації. Серед таких сполук слід відмітити хлоровані феноли, катехоли, ваніліни, дихлорметилфуранони, мутагени, що вико-

ристовуються при вибілюванні целюлози - дихлорметан, дибромхлорметан, три-тетра-пентахлорацетон та ін. Роботами нашої кафедри показано, що значний внесок в мутагенне навантаження поверхневих водойм довкілля належить саме стічним водам з підприємств різних галузей виробництва. Очисні споруди проаналізованих нами підприємств Львівщини не забезпечують повної нейтралізації стічних вод від генотоксичних агентів [6,7,8]. Для оптимізації процесу очищення водних токсичних стоків від розчинених хімічних речовин, які можуть проявляти мутагенну та канцерогенну активність, є доцільним використання вітчизняних природних сорбентів. Цей шлях є економічно вигідним, оскільки на території України розташовані значні поклади природних сорбентів, зокрема, опок, бентонітових глин, трепелів, цеолітів, глауконітолітів та інших. Для кожного з них характерний свій спектр сорбційних властивостей.

Глауконітоліти - мінерали групи гідролітів. Мінерал характеризується непостійним і складним хімічним складом. Найголовнішими складовими частинами глауконітолітів є: кремнезем (49-56%), закис і окис заліза (до 21%), окис алюмінію (до 18%), окис калію (до 10%), окис магнію (до 7%) і вода (до 13%). Наявність в його структурі обмінних катіонів і здатних до набрякання шарів зумовили широкий спектр сорбційних властивостей цього мінералу. Встановлено, що глауконітоліт є активним поглиначем радіонуклідів, важких металів, органічних сполук [9].

Трепели - відносяться до дисперсних кремнеземів. Трепели є, в основному, макропористими утвореннями.

За рахунок цих макропор і відбувається адсорбція. За фізико-хімічними властивостями трепел аналогічний діатоміту, але майже позбавлений органічних залишків. Переважно трепели містять у невеликій кількості глинисту речовину, зерна глауконіту, кварцу, польових шпатів. Подібно діатоміту, трепел застосовується як ізоляційний, фільтрувальний, абразивний, будівельний матеріал, а також використовується як поглинач, каталізатор, наповнювач, адсорбент [10].

Цеоліти - кристалічні силікати. Вони характеризуються правильною просторовою структурою з порівняно великими відстанями між вузлами каркасу. У силікатному каркасі частина іонів Si^{4+} заміщена іонами Al^{3+} ; один елементарний заряд на кожний атом алюмінію компенсується іонами лужних або лужноземельних металів, які можуть обмінюватися на інші іони. Особливістю цеолітів є наявність у структурі системи порожнин і каналів, які містять у собі катіони і молекули води. Для процесів сорбції та іонного обміну важливе значення мають розміри та положення каналів, по яких молекули проникають у внутрішню кристалічну вільну об'єм [11].

Активоване вугілля, одержують з викопних чи деревних вугіль, шляхом видалення смолистих речовин і створенням розгалуженої мережі пор. Має високорозвинену поверхню, завдяки цьому поглинає (адсорбує) багато речовин (особливо добре вуглеводні і їхні похідні, слабше - спирт, аміак, воду й інші полярні речовини). Іонообмінні смоли, синтетичні високомолекулярні (полімерні) органічні іоніти. Відповідно до загальної класифікації іонітів іонообмінні смоли поділяють на катіонообмінні (полікислоти), аніоно-

обмінні (поліоснови) і амфотерні, чи біполярні (поліамфоліти). Катіонообмінні смоли бувають сильно- і слабокислотні, аніонообмінні - сильно- і слабоосновні [12].

Матеріали і методи

Матеріалом досліджень служили відходи нафтопереробної, хімічної та целюлозо-паперової галузей промисловості. А саме, зразки рідких фторорганічних відходів виробництва мономеру ФС-141 ВАТ "Бориславський НДІ "Синтез". Виробництво мономеру ФС-141 припинено в 1991 році. Мономер ФС -141 ($C_7F_{14}O_4S$) використовувався як один з вихідних продуктів виробництва іонообмінних мембран для процесів отримання хлору та каустичної соди електролізом хлористого Na. Синтез мономеру здійснювався за рахунок термічної взаємодії продукту ФС-161 (4,7-трифторметил-3,6-диоксо-8-оксоперфтороктансульфонілфториду-

1) з безводним вуглекислим Na. Кількість рідких фторорганічних відходів складає 2,1 тони, що є критичним для підприємства. До їх складу входять: фторорганічні сполуки (мономер ФС-161 ($C_8F_{16}O_5S$) - 80% та діглім ($C_6H_{14}O_3$) - 20% (диметилловий ефір етиленгліколю). Рідкі відходи зберігаються в складському приміщенні в металічних ємностях. Відходи відносяться до III класу небезпечності. Суміш рідких фторорганічних відходів виробництва мономеру ФС-141 в кількості 2,1 тон. могла б бути вивезена на полігон для поховання рідких відходів. Однак під впливом опадів (дощів) можливе забруднення підземних водоносних шарів фтором, а при наявності в воді (колодязях) солей важких металів можливе повторення ефекту потенціювання (підсилення) токсичної дії фтору і появи ендемічного флюорозу.

Матеріалами для досліджень служили також зразки води, відібрані з

Кратність перевищення кількості колоній ревертангі відносно контролю

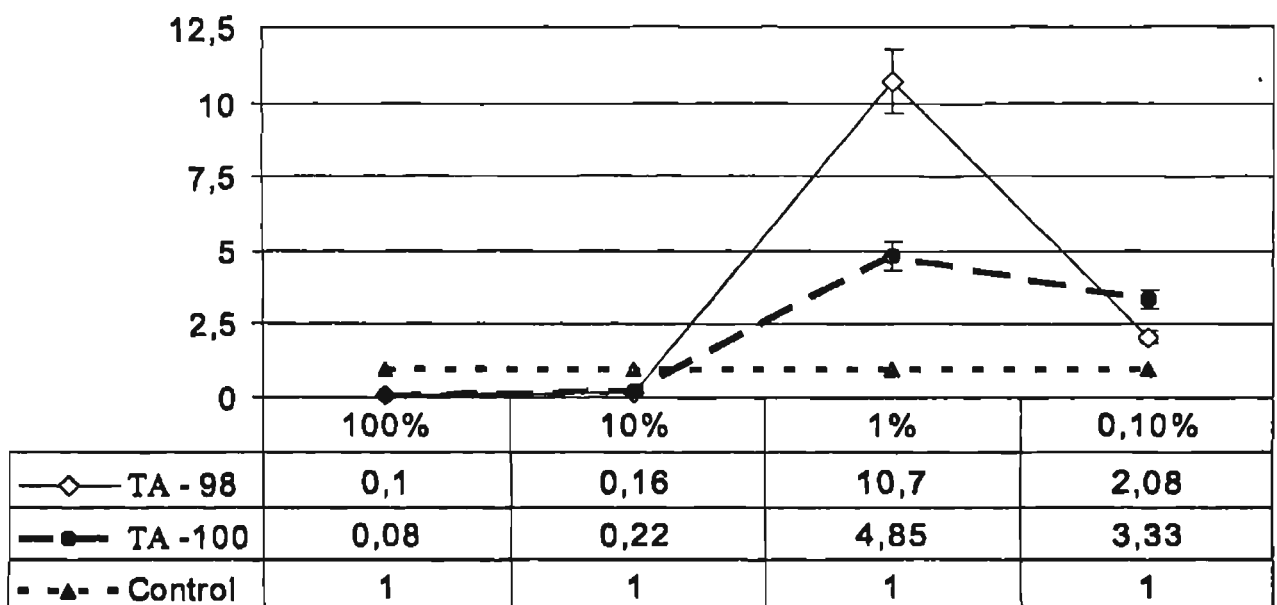


Рисунок 1. Мутагенна активність рідких відходів виробництва мономеру ФС-141 в тесті Еймса

хвостосховища, в якому зберігаються відходи нефункціонуючого Стебницького ДГХП "Полімінерал", зараз там знаходиться 3 млн. кубометрів ропи. Відбір проб з хвостосховища проводили на глибині 0,2-0,3 м від поверхні води по 1,5л. в чотирьох місцях. Хімічними складовими компонентами відходів даного підприємства є солі: $K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$, KCl, NaCl, $MgCl_2$, K_2SO_4 , $MgSO_4$, $CaSO_4$ та важкі метали.

Дослідження проводили, також, на відходах Львівського нафто-маслозаводу "Ольвіт" (кислі гудрони). Гудрон - чорна смоляниста маса, що отримується після відгону з нафти паливних та масляних фракцій. Смолянисті залишки після сірчаної очистки нафти називаються кислим гудроном. На протязі останніх 50 років на території Львівщини кислих гудронів набиралося більше 500 тисяч тон. Більше 300 тисяч тон знаходиться лише на відстані кількох кілометрів від Львова на звалищі у с. Грибовичах. Ще один такий "могильник" знаходиться в Дрогобичі. І тепер, хоча в менших кількостях ці "запаси" продовжують поповнюватись. Питанням ліквідації чорних озер довгий час займаються вітчизняні вчені та спеціалісти, проте в країні до сьогодні немає ефективної технології розкислення та подальшої утилізації кислих гудронів. Зразки відбирали з кислогудронних ставків, розташованих поблизу села Грибовичі, що за декілька кілометрів від м. Львова, на різній глибині: поверхневий шар, 15 см та 80 см від поверхні.

В якості об'єкта дослідження були взяті, також, зразки відходів одного з підприємств целюлозо-паперової промисловості Львівщини. Для досліджень використовували нативні зразки до проходження через очисні спо-

руди, а також зразки після кожної стадії очистки з використанням різних ступенів механічного очищення. В процесі виробництва в стічні води потрапляють: толуол, ксилол, метилмеркаптал, стирол, етилацетат, бензол, аміак, сірководень, метанол, діоксини, диметилсульфіт, хлороорганчні сполуки, формальдегід та інші високотоксичні сполуки.

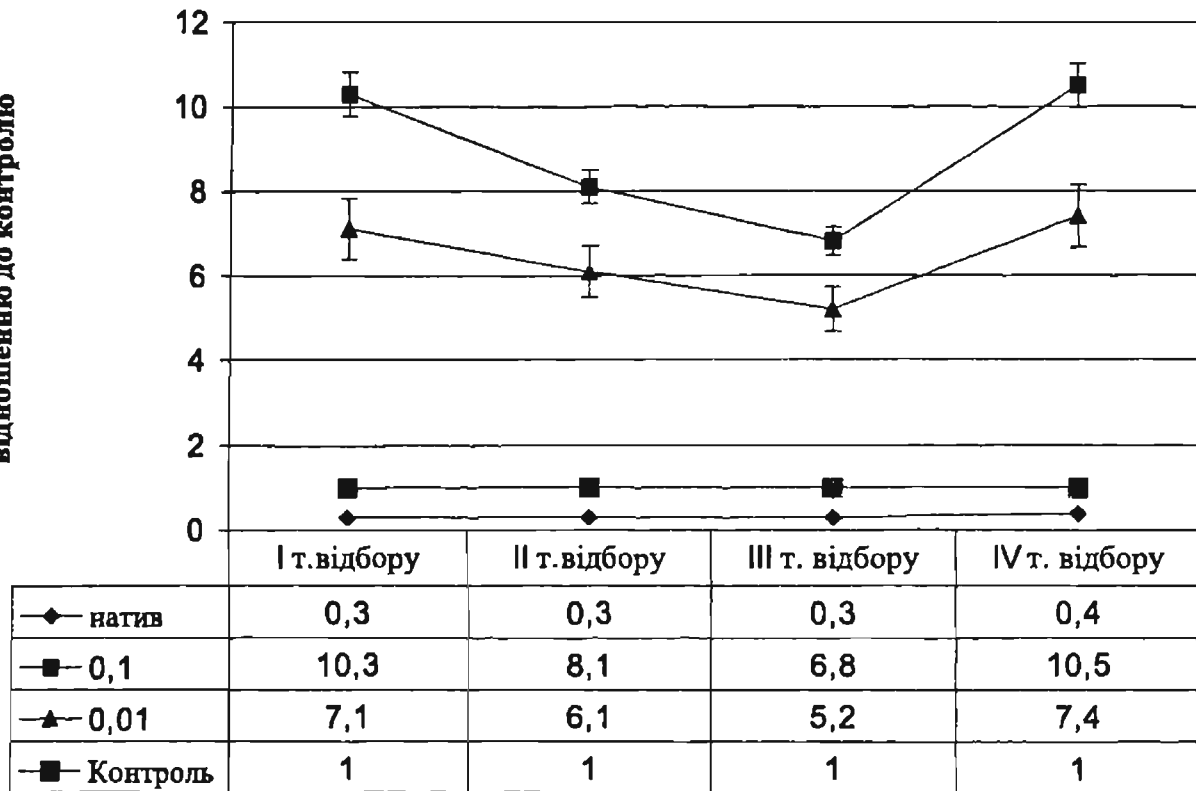
Для виявлення мутагенної активності використовували тест Еймса на двох штаммах *Salmonella typhimurium* TA 98 (his D 3052, rfa, Δ uvr B, +R), який реєструє генні мутації типу зсуву рамки зчитування і TA 100 (his G46, rfa, Δ uvr B, +R), який реєструє генні мутації типу заміни пар основ [13]. Наявність мутагенного ефекту в зразках враховували за індукцією обернених мутацій від ауксотрофності за гістидином до прототрофності. Відповідність кожного бактеріального штаму власному генотипу та характерний спонтанний рівень реверс-мутацій визначали за методикою, запропонованою Maron і Ames [14]. Оцінку мутагенності проводили за методом множинних порівнянь Даннета з модифікацією О. М. Дугана [15].

Результати та обговорення

В результаті генотоксикологічних досліджень, в тесті Еймса на *Salmonella typhimurium*, показано, що суміш рідких відходів виробництва мономеру ФС-141 ВАТ "Бориславський НДІ "Синтез", здатна індукувати генні мутації за механізмами зсуву рамки зчитування та заміни пар основ. Мутагенна активність виявлена при розведенні досліджуваного зразка з дистильованою водою у 100 та 1000 разів. При менших розведеннях спостерігався цитотоксичний ефект (Рис. 1).

Кратність перевищення кількості колоній ревертантів по відношенню до контролю

ТА-98



Кратність перевищення кількості колоній ревертантів по відношенню до контролю

ТА-100

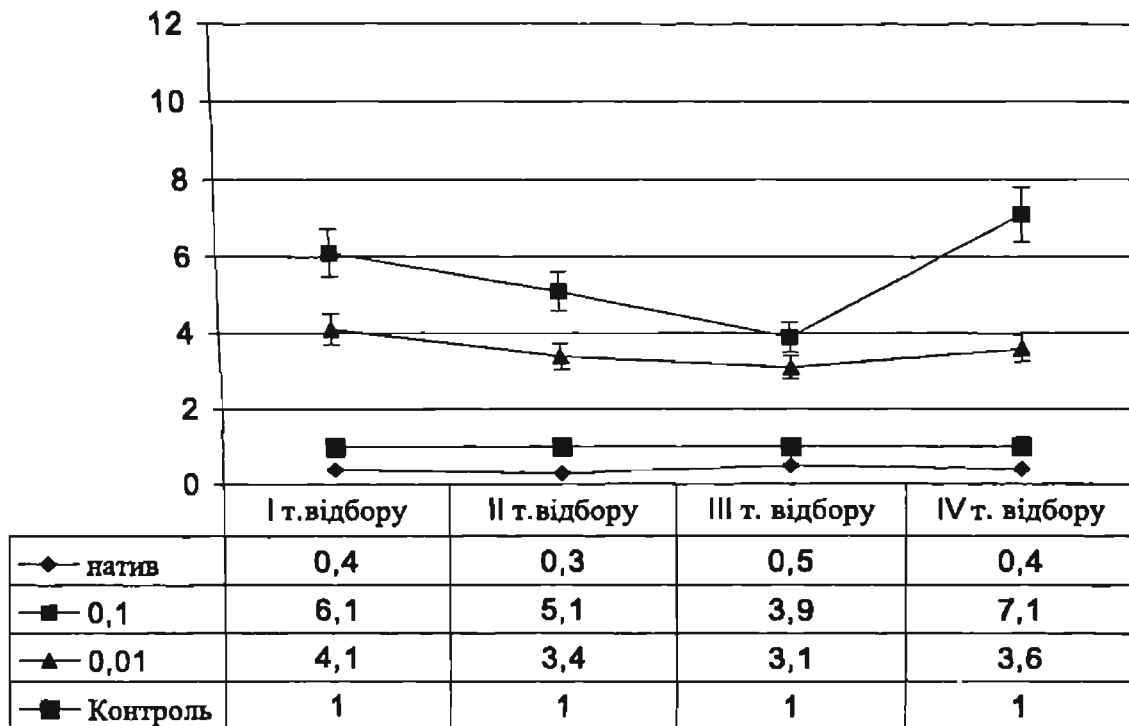


Рисунок 2. Мутагенна активність відходів Стебницького калійного комбінату в тесті Еймса

Проведено дослідження, щодо доцільності використання природних сорбентів (глауконіт, трепел, цеоліт, активоване вугілля) та синтетичних сорбентів (іонообмінні смоли) для зняття/зменшення мутагенних фонів суміші рідких відходів виробництва мономеру ФС-141. Для експерименту використовували об'ємне співвідношення зразок до сорбента 1:1 і 1:2. При добовій експозиції 100 і 10% зразка з глауконітом у об'ємному співвідношенні 1:1 досягнути бажаного ефекту не вдалося, лише при збільшенні кількості сорбенту у два рази мутагенність зразків відчутно знизилась. При застосуванні трепелу у об'ємному співвідношенні 1:1 мутагенний ефект знижувався, проте не знімався повністю. При використанні цеоліту у об'ємному співвідношенні 1:1 мутагенність

знімалася і при нативних концентраціях і при розведеннях на обох штаммах. Дослідження з активованим вугіллям показало зняття мутагенної активності лише при розведеннях зразків у 1000 разів. При добовій експозиції синтетичним сорбентом КУ 2-8 з зразками усіх концентрацій мутагенність знімалася лише на штамі ТА-100. Виходячи з результатів даних досліджень, найефективнішими для зняття мутагенних фонів рідких відходів виробництва мономеру ФС-141 виявилися: цеоліт (1:1) > глауконіт (1:2) > трепел (1:1) > іонообмінні смоли (1:1) > активоване вугілля (1:1).

Виявлена мутагенна активність рідких відходів з хвостосховища нефункціонуючого Стебницького калійного комбінату. Індукція генних мутацій в тесті Еймса зафіксована на обох

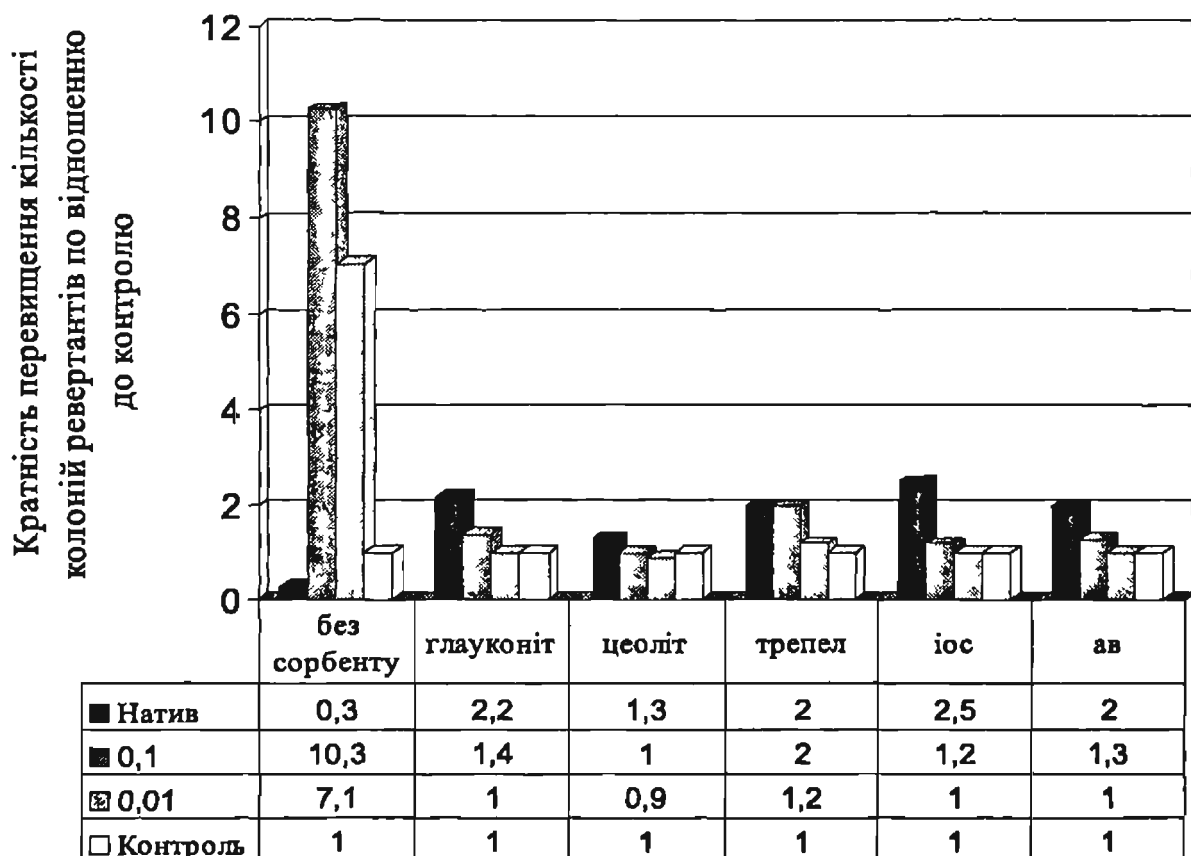


Рисунок 3. Зміна мутагенної активності рідких відходів виробництва ДГХП "Полімінерал" після добової експозиції з сорбентами у співвідношенні 1:1 на штамі ТА-98

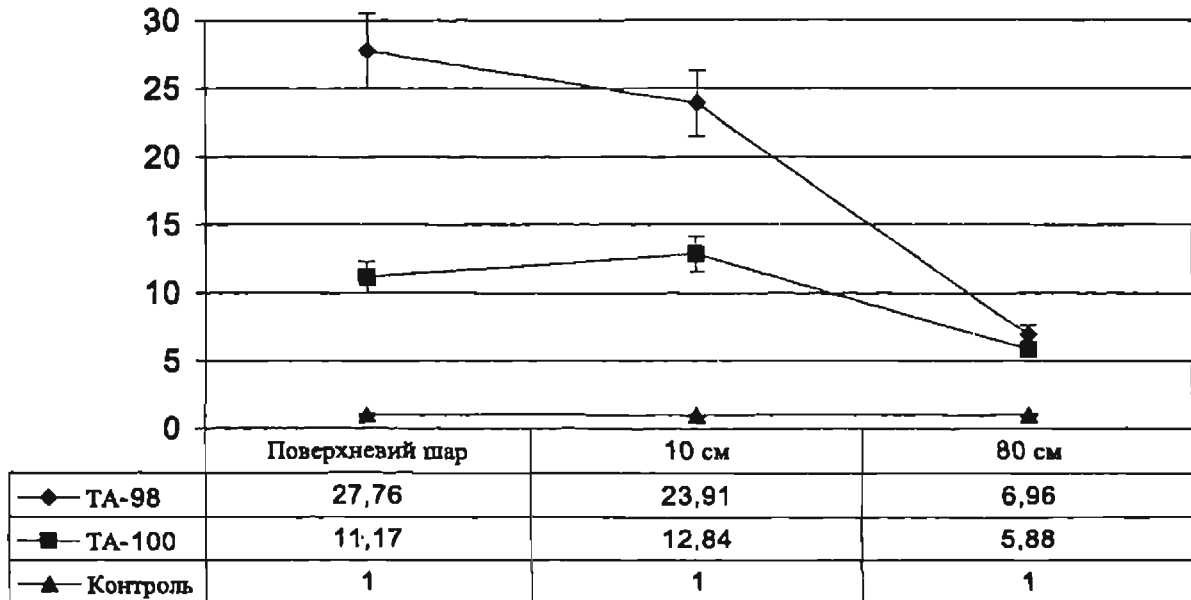
штамах лише при розведеннях у 10 і 100 разів (рис.2).

Нативні зразки з відстійника проявляли високу токсичність для бакте-

рій. Значний рівень реверсій виявлений при розведенні зразків у 10 разів, кратність співвідношення кількості колоній на дослідних чашках в порів-

Кратність перевищення кількості колоній ревертантів по відношенню до контролю

Нативні зразки



Кратність перевищення кількості колоній ревертантів по відношенню до контролю

10 кратне розведення

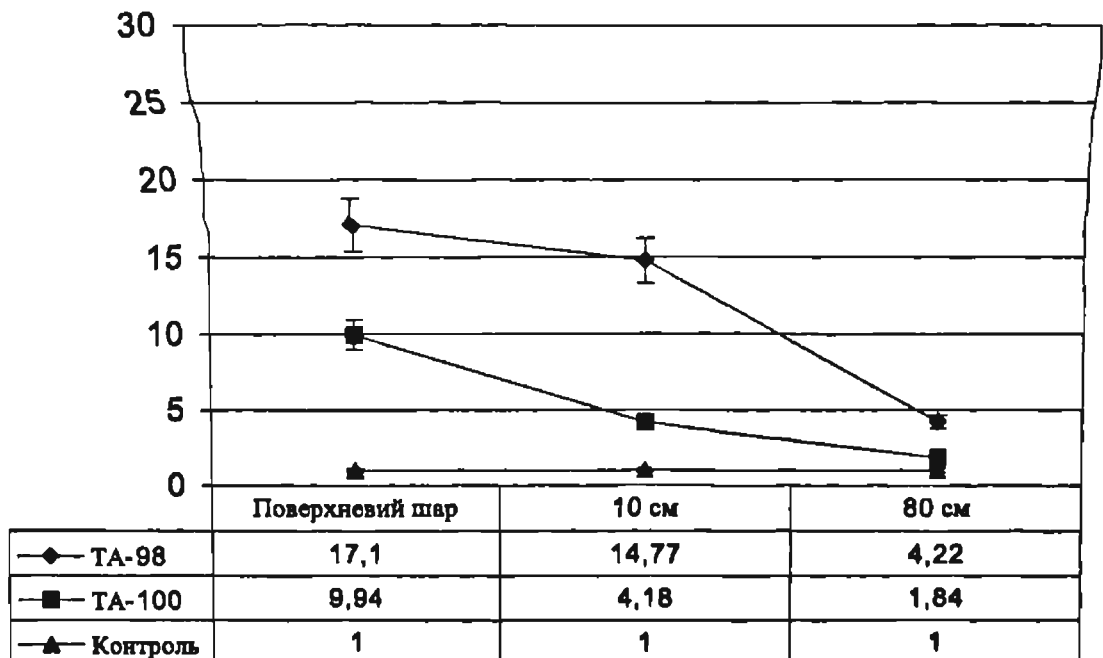


Рисунок 4. Зміна мутагенної активності рідких відходів виробництва Львівського нафто-маслозаводу "Ольвіт" в залежності від розведення

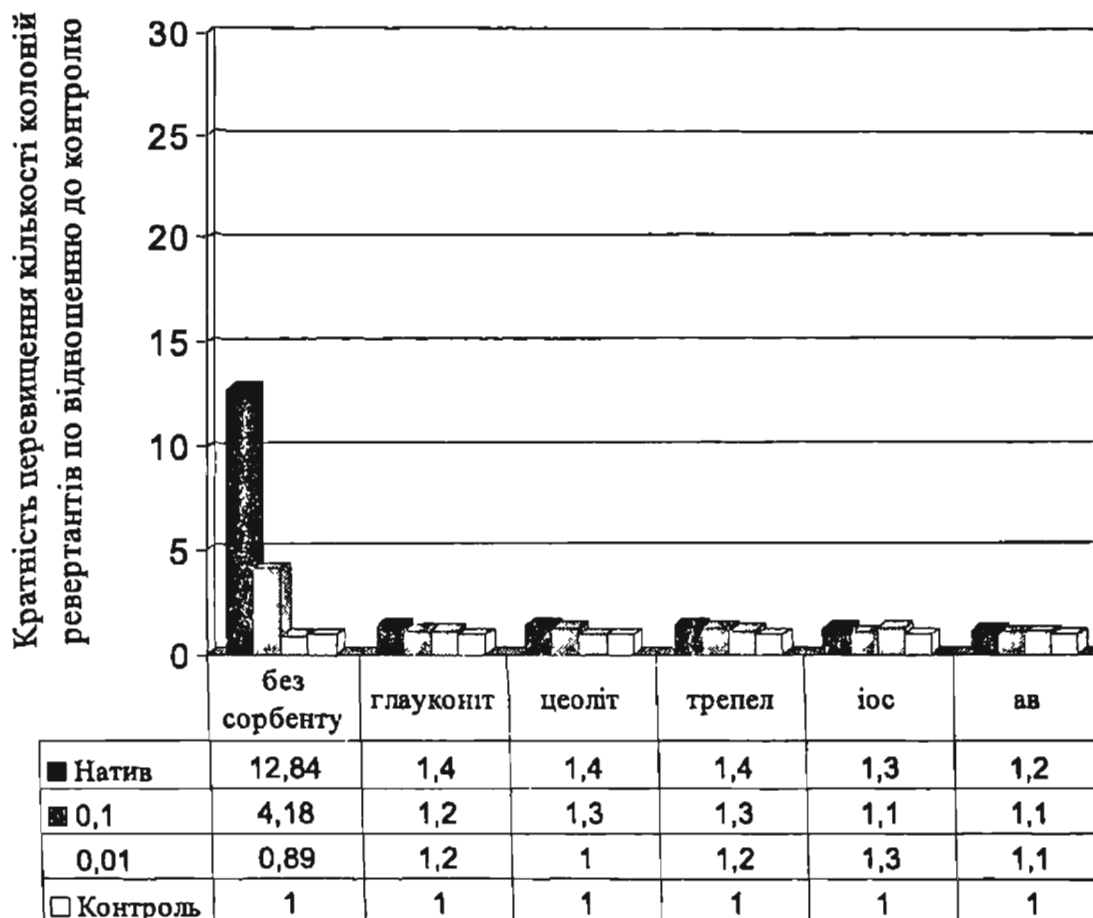


Рисунок 5. Зміна мутагенної активності рідких відходів виробництва нафто-маслозаводу "Ольвіт" після добової експозиції з сорбентами у співвідношенні 1:2 на штамі TA-100 (15 см глибинний шар гудронного ставка)

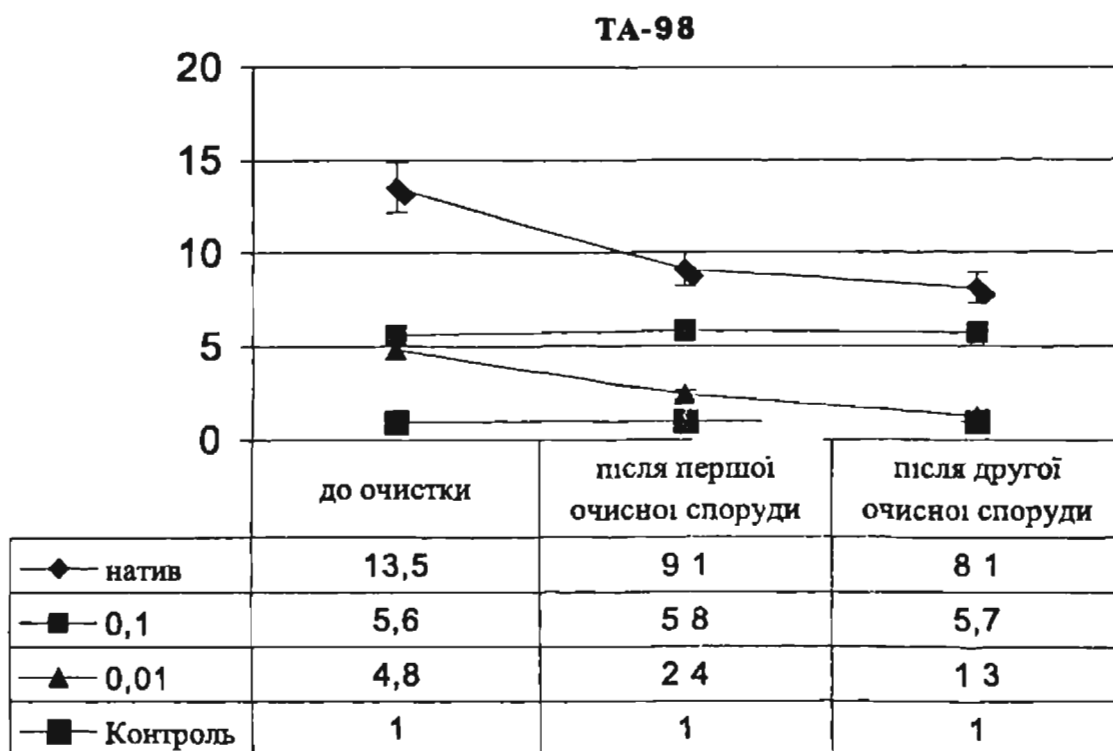
нянні з контрольними перевищувала більше 10 разів, що за загальноприйнятою бальною системою мутагенності, можна оцінити двома балами. Зразки, розведені в 100 разів, зберігали свою мутагенну активність, хоча була вона дещо нижчою. При добовій експозиції досліджуваних зразків рідких відходів виробництва калійних добрив з природними сорбентами отримані наступні результати (рис.3).

Найкраще мутагенність знімалась з участю природних сорбентів при розведенні досліджуваних зразків у 10 і 100 разів. Нативні зразки відходів виробництва ДГХП "Полімінерал" після добової експозиції з сорбентами не проявляли мутагенних фонів лише з цеолітами і тільки на штамі TA-98. Гла-

уконіти, трепели, іоннообмінні смоли КУ 2-8 і активоване вугілля зменшували рівень мутагенності досліджуваних відходів на 50-70%. Виходячи з отриманих результатів можна прийти до висновку, що найоптимальнішим сорбентом, який повністю знімає мутагенність відходів виробництва ДГХП "Полімінерал" є цеоліти.

Наступним об'єктом досліджень були відходи Львівського дослідного нафто-маслозаводу "Ольвіт". В тесті Еймса виявлений високий рівень мутагенності цих відходів (рис.4). Незалежно від розведення, найвищі показники кратності перевищення кількості ревертантів на дослідних чашках над контрольними чашками виявлені при дослідженні поверхневих шарів став-

Кратність перевищення кількості колоній ревертантів по відношенню до контролю



Кратність перевищення кількості колоній ревертантів по відношенню до контролю

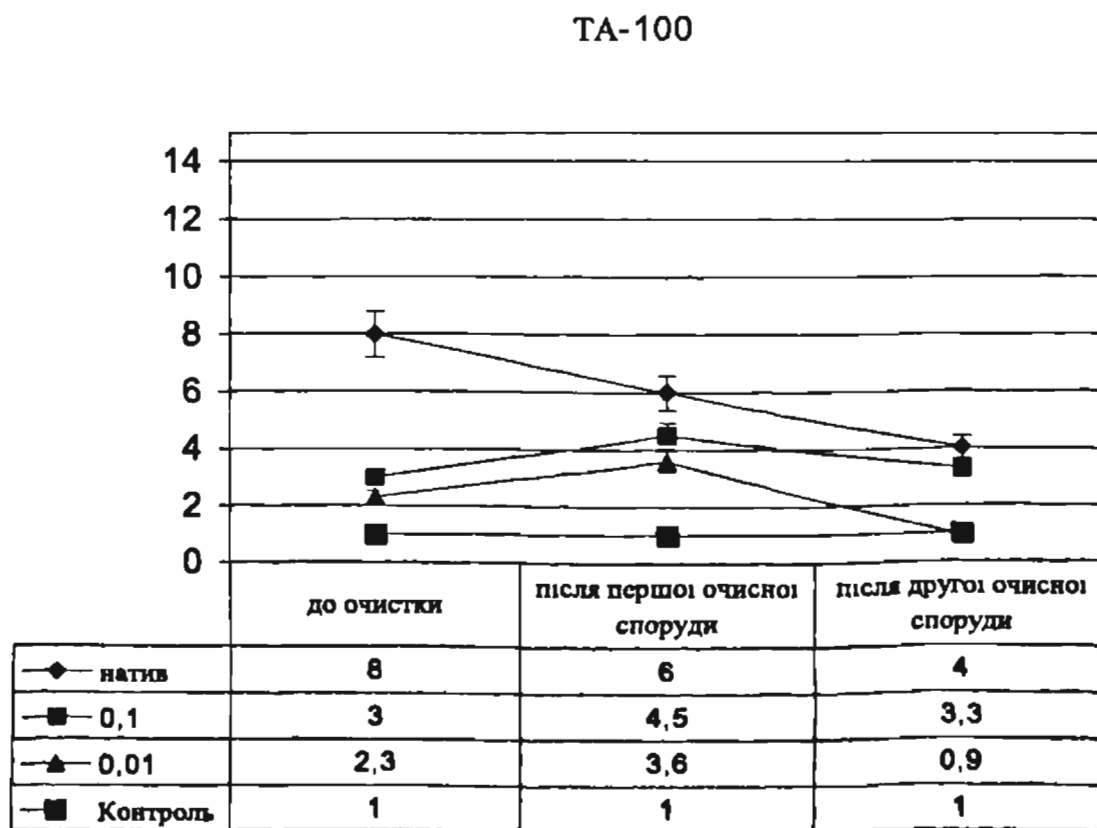


Рисунок 6. Мутагенна активність відходів целюлозо паперового виробництва в тесті Еймса

ка. Рівень мутагенності нижчих точок відбору від поверхні водойми дещо зменшувався, проте рівень реверсій на дослідних чашках був у 5-25 разів вищим, ніж на контрольних чашках і цей ефект спостерігався на обох штамах.

При добовій експозиції поверхневих шарів гудронного ставка з сорбентами у об'ємному співвідношенні 1:1 на штамі ТА-98 мутагенність зменшувалася приблизно на 40%. Такі ж результати отримані при дослідженні зразків відібраних на глибині 15 см. На штамі ТА-100 при вивченні відходів нафто-маслозаводу мутагенність знімалася повністю. Мутагенна активність зразків, відібраних на глибині 80 см кислогудронного ставка, знімалася досліджуваними сорбентами повністю на обох штамах. Оскільки

при вивченні зразків поверхні водойми мутагенність до кінця не була знята, вирішили збільшити об'єм сорбуючих реагентів. При об'ємному співвідношенні відходів нафто-маслозаводу "Ольвіт" 1:2 мутагенність знімалася повністю, причому це стосувалося всіх сорбентів, які використовувалися в дослідженнях (рис.5).

Проводили також дослідження з резервуарів, в яких зберігалися відходи одного з целюлозо-паперових підприємств Львівщини. Мутагенну активність в тесті Еймса вивчали у зразках, які пройшли різні ступені механічного очищення: до очищення, після проходження через першу очисну споруду і після проходження через другу очисну споруду. Виявлений значний рівень мутагенної активності на зразках відібраних до механічних очисток, кратність рівня

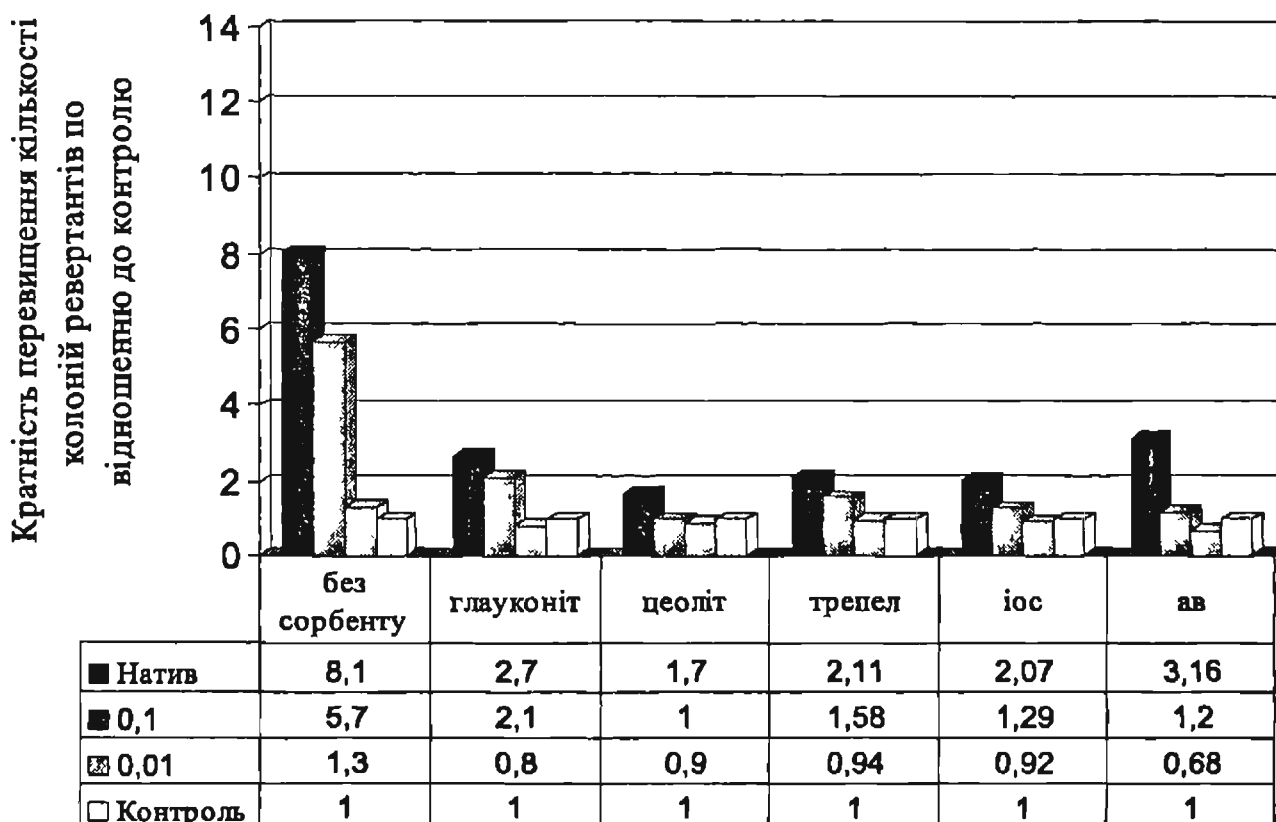


Рисунок 7. Зміна мутагенної активності відходів целюлозо-паперової промисловості після добової експозиції з сорбентами у співвідношенні 1:1 на штамі ТА-98 після другої стадії очистки

реверсій сягала більше 10 разів (рис.6). Після проходження відходів через перший механічний відстійник, мутагенність останніх дещо зменшується. Така ж тенденція спостерігалась і при дослідженні зразків, відібраних після другого механічного відстійника, проте мутагенність у цих зразках була таки виявлена навіть при 100 разовому розведенні. Виходячи з цього можна вважати, що відходи даного підприємства володіють мутагенною активністю, навіть після проходження через системи відстійників.

Після добової експозиції відходів виробництва целюлозо-паперового підприємства з сорбентами - глауконітом, цеолітом, трепелом, іонно-обмінними смолами, активованим вугіллям у об'ємному співвідношенні 1:1 мутагенність зразків зменшувалася, але повністю не знімалася. Це стосувалося, в першу чергу, нативних зразків і розведених у 10 разів зразків відходів до проходження механічної очистки, а також після проходження першої стадії очистки. Найкращі показники зняття мутагенної активності виявлені при застосуванні цеолітів на зразках, які пройшли другу стадію очистки (рис.7).

Таким чином, використання природних сорбентів для зменшення або зняття мутагенної активності рідких токсичних стоків з різних галузей промисловості виявилось виправданим. Ефект зменшення мутагенної активності після експозиції з сорбентами спостерігали при дослідженні відходів, обтяжених різноманітними токсичними хімічними речовинами. Слід зазначити, також, різну дію сорбції та різні ефекти зняття мутагенності при використанні тих чи інших природних та синтетичних сорбентів. В деяких випадках мутаге-

ну активність вдалося зменшити на 80-100%. Найефективнішими виявились цеоліти та глауконіти.

Перелік літератури

1. Качинський А. Б. Екологічна безпека України: системний аналіз перспектив покращення. - К.: НІСД, 2001.- 312 с
2. Ковальчук А. С., Случин В. М., Геращенко С. В. Оцінка генетичного ефекту дії факторів хімічного виробництва // Цитологія та генетика.-1994.-т. 28, №3.-С 41-47.
3. Фурасов В., Пастухова Е. Динамика розвитку природних і техногенних незвичайних ситуацій // ВІНИТИ. Проблеми безпеки при незвичайних ситуаціях. - 1999. - №9. - С. 46-57.
4. Порошенко Г. Г., Абишев С. К. Антропогенні мутагени і природні антимутагени. В кн. Итоги науки и техники. Общая генетика. -Т 12.- М.- 1988.- С.62-74.
5. Федоров Л. А. Диоксины, как экологическая опасность: ретроспектива и перспективы. - М.: Наука, 1993.- С. 2-158.
6. Боднар Л. С., Мацяк А. В. Виявлення генотоксичної активності стічних вод різних галузей промисловості. Екологічна токсикологія на порозі ХХІ ст. - К. - 1997. - Вип.1.-с. 46-48
7. Мацяк А. В., Боднар Л. С. Обстеження на генотоксичну активність води з деяких водоймищ промислових районів Львівської області. Актуальні проблеми медицини, біології, ветеринарії і сільського господарства. - 1997. - №3. - С. 73 - 77.
8. Боднар Л. С., Мацяк А. В., Беляєва В. В. Моніторинг генотоксикологічного забруднення деяких чинників навколишнього середовища // В кн. "Генетика і селекція в Україні"/ Ред. В. В. Моргуна. - К.: Логос, 2001. - С. 219-225.
9. Николаева И. В. и др. Минералогия и геохимия глауконита. - М.: Наука, 1972.- 69 с.
10. Тарасевич Ю. И. Адсорбция на глинистых минералах. - К.: Наук.думка, 1975 -352 с
11. Котельников Д. Д., Конюхов А. И. Глинистые минералы осадочных пород - М., 1986 - 247 с.
12. Алесковский В. Б. Химия твердых веществ М - 1978. - 225 с.
13. Ames B. N. A bacterial system for detecting mutagens and cancerogens Mutagenic

Effect of Environmental Contaminants. Academic Press, New York. - 1972. - P.261-282.

14. Maron D. M., Ames B. N. Revised for the Salmonella mutagenicity test. // Mut. Res., 1983, V.113.- P. 172-215.

15. Дуган А. М. Продукты хлорирования воды как индукторы генных мутаций // Цитология и генетика. - 1996. - 30, N 5. - С. 76-80.

*Представлено І. Р. Баріляком
Надійшла 21.02.2005 р.*

**ПРИМЕНЕНИЕ ПРИРОДНЫХ СОРБЕНТОВ
ДЛЯ УМЕНЬШЕНИЯ МУТАГЕННЫХ ФОНОВ
ЖИДКИХ ТОКСИЧЕСКИХ СТОКОВ ИЗ
ПРЕДПРИЯТИЙ РАЗНЫХ ОТРАСЛЕЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ В ТЕСТЕ ЕЙМСА**

*О. М. Ревега, Л. С. Боднар,
М. В. Дубовицкая, М. М. Стухляк,
С. М. Горбулинская*

Львовский национальный университет
имени Ивана Франко,
биологический факультет,
79005, г. Львов, ул. Грушевского, 4
E-mail: o_reveha@franko.lviv.ua

Поданы результаты целесообразности применения природных сорбентов (глауконита, цеолита, трепелов, активированного угля) и синтетических ионнообменных смол КУ 2-8 для снятия или уменьшения мутагенных фонов жидких токсических отходов с предприя-

тий химической, нефтеперерабатывающей и целлюлозо-бумажной отраслей промышленности.

Ключевые слова: сорбент, генные мутации, мутагенность, химический мутагенез, *Salmonella typhimurium*, сточные воды, генотоксикология.

**APPLICATION OF NATURAL SORBENTS FOR
REDUCTION OF MUTAGENIC BACKGROUNDS
OF LIQUID TOXIC DRAINS FROM ENTERPRISES
OF DIFFERENT BRANCHES OF INDUSTRY
IN AMES TEST**

*O. M Revega, L. S. Bodna, M. V Dubovitska,
M M Stuhlyak, S M Gorbunskaya*

Ivan Franko national university of L'viv
biological faculty
79005, L'viv Hrushevsky str, 4
E-mail: o_reveha@franko.lviv.ua

The given results of expedience of application of natural sorbents (glauconites, zeolites, Trepels, absorbent carbon) and synthetic ion exchange resins KU 2-8 for the removal or reduction of mutagenic backgrounds of liquid toxic wastes from the enterprises of chemical oil refining and cellulose-paper branches of industry.

Key words sorbent, gene mutations, mutagenity, chemical mutagenesis, *Salmonella typhimurium*, liquid toxic drains, genotoxicology.

УДК 636.598:636.082.43

ГІБРИДИЗАЦІЯ БІЛОШИЄЇ ГУСКИ (*ANSER CANAGICUS SW.*) З ІНШИМИ ПРЕДСТАВНИКАМИ ПІДРОДИНИ ГУСЯЧИХ (*ANSERINAE*)

Є. П. СТЕКЛЕНЬОВ

Біосферний заповідник "Асканія-Нова" ім. Ф. Е. Фальц-Фейна,
75230, Херсонська обл., смт. Асканія-Нова, вул. Фрунзе, 13

*Наведено результати схрещування білошиєї гуски (*Anser canagicus Sw.*) з іншими представниками підродина гусячих (*Anserinae*), аналізуються показники запліднення яєць при міжвидових схрещуваннях, виведення пташенят та відтворювальної здатності гібридного потомства.*

Ключові слова: гусячі, білошия, гірська, сіра гуска, гібридизація, плідність/безпліддя, розвиток, сперматогенез

Вступ. Пізнання закономірностей і характеру поведінки у окремих видів тварин з метою їх раціонального використання при внутривидовому розведенні та віддаленій гібридизації, збереження генофонду рідких на землі і зникаючих видів, а також уточнення їх систематичного положення у зоологічному ряду по принципу запліднення при міжвидових і більш віддалених схрещуваннях, а також плідності (чи безпліддя) гібридного потомства зараз стає дуже актуальним.

Одним із основних бар'єрів, які заважають віддаленим схрещуванням тварин, є статеві ізоляції, обумовлені філогенетичною віддаленістю відправних видів. Вільне гетерогенне парування окремих видів тварин проходить в основному при внутрі- і міжвидових схрещуваннях. При міжпідродових, міжродових і більш далеких поєднаннях взаємна статеві реакція тварин, за рідким винятком, відсутня; її проявлення і гетерогенне парування можливе тільки в умовах неволі або напіввільного утримання. При відсутності статевого партнера свого виду в таких умовах дуже часто спостерігається збочення статевих рефлексів.

У результаті багаторічних спостережень за поведінкою окремих представників підродина гусячих (*Anserinae*), що утримуються на ставках заповідника "Асканія-Нова", встановлено утворення стійких "збочених" шлюбних пар у комбінації: біла полярна х сіра гуска, канадська казарка;

білолоба х сіра гуска, гуменник; білолоба х сіра гуска; чорний лебідь х сіра гуска; чорний лебідь х лебідь шипун; лебідь шипун х лебідь кликун та інші. Більшість з них парувалося між собою, хоча не в усіх поєднаннях одержано гібридне потомство [1].

З усіх провірених нами поєднань у межах підродини гусячих з використанням свійської і сірої гуски (*Anser anser* L.), білолобої (*Anser albifrons* Scop), сухоноса (*Anser cygnoides* L.), гуменника (*Anser fabalis* Lath), гуски малої (*Anser erythropus* L.), білошиї гуски (*Anser canagicus* Sev), та канадської казарки (*Branta canadensis*), гібридне потомство одержано в комбінації: білолоба гуска х свійська; сухоніс х свійська, дика сіра; полярна х сіра; гуменник х сіра; гірська х сіра; гірська х полярна; полярна х канадська казарка; канадська казарка х сіра, свійська гуска, хоча результативність гібридизаційних процесів у кожному окремому поєднанні неоднакова й характеризується різними показниками заплідненості, виведення пташенят, плідності одержаних гібридів тощо. Зовсім плідне потомство як по чоловічій, так і жіночій лінії одержано в результаті схрещування білолобої гуски з сірою і свійською. Одержані в результаті схрещування білолобої гуски (♂) зі свійською (♀) гібриди виявились плідними. За розвитком вони займали проміжне положення між відправними видами з середньою масою дорослих особин (♀♀) у 3,7-3,8 кг.

Відносно успішно проходить схрещування гуски сухоноса з сірою і свійською гускою. Нами одержані гібриди в обох поєднаннях, хоча показник виведення пташенят був дуже низьким, що обумовлено високою ембріональною смертністю зародків на різних

етапах ембріогенезу; одержане потомство виявилось плідне як по чоловічій, так і по жіночій лінії [1]. В результаті парування гібридного самця цієї комбінації схрещування з гібридною самкою комбінації білолоба (♂) свійська гуска (♀), одержано також плідне потомство при нормальній заплідненості яєць і виведенні пташенят. Плідним виявився гібридний самець, одержаний у комбінації сухоніс (♂) х свійська гуска (♀); по своєму розвитку він не поступався свійській гусці (5,7кг). В результаті парування цього ж самця з самками вихідних видів одержано потомство, плідне як по чоловічій, так і жіночій лінії. На існування плідних гібридів у цих варіантах схрещувань вказує і ряд інших авторів [2-5]. Судячи за їхніми даними, гібриди цієї комбінації схрещувань як у прямому, так і у зворотному поєднанні плідні і дають гібридне потомство при розведенні у "собі", а також схрещуванні з вихідними видами, хоча в останньому випадку виведення пташенят становило лише 50-60%. У результаті схрещування гібридів цих двох комбінацій (сухоніс х свійська і білолоба х свійська) - одержані перспективні з точки зору господарського використання потрібні гібриди з $\frac{1}{2}$ крові свійської, $\frac{1}{4}$ сухоноса і $\frac{1}{4}$ білолобої гуски. Заплідненість яєць при схрещуванні цих гібридів становила 70,6 %, виведення пташенят - 70,8%. Ембріональна смертність частини (29,2%) гібридних зародків проходила на різних етапах ембріогенезу. Гібридні пташенята характеризувалися хорошим розвитком; жива маса дорослих особин дорівнювала $4,4 \pm 0,15$ кг (враховано 6 особин).

Приблизно такі ж показники запліднення яєць, виведення пташенят та

розвитку потомства відмічені й при розведенні потрійних гібридів у "собі". З 28 врахованих яєць заплідненими виявилось 23 (82,1%), виведення пташенят становило - 75%. Жива маса дорослих гібридів держалася на одному рівні (4,2 - 4,6 кг).

До числа плідних можна віднести гібридів гуски гуменника з сірою [6-8]. У результаті спостережень за одною збоченою парою гуменника (♂) з сірою гускою (♀) протягом декількох суміжних сезонів встановлено повноцінне парування, відкладання яєць та їх насиджування, однак, судячи за малою чисельністю виводків (1-2 пташеняти), можна допустити, що частина яєць не запліднюється, а якщо запліднення відбувається, то має місце відмирання гібридних зародків на різних етапах ембріонального розвитку [1]. Гібриди ці за своїми екстер'єрними ознаками займають проміжне положення між вихідними видами, більше схиляючись у сторону сірої гуски. В результаті парування гібридів I покоління з сірою гускою одержано гібридне потомство подальших поколінь, яке майже нічим не відрізняється від сірої гуски.

Порівняльно легко, судячи за літературними даними [2, 6, 7, 9-12] та нашими дослідженнями, схрещується канадська казарка з сірою і свійською гускою як у прямих, так і зворотних поєднаннях, причому більшість авторів вказує на абсолютне безпліддя одержаних гібридів. Судячи за даними Ленберга [11], від одного гібридного самця, який парувався з гібридною самкою комбінації гірська х білолоба гуска, одержано потомство, що свідчить про можливість появи окремих плідних особин у першому поколінні.

В результаті інших спостережень за порівняльно великою кількістю гіб-

ридів прямих і зворотних схрещувань (близько 10 особин) комбінації канадська казарка х сіра і свійська гуска, плідного потомства не виявлено [1]. У статевому відношенні вони зовсім пасивні, їх парування і відкладення яєць гібридними самками не відмічено. Слід вказати також на дуже низький показник виведення гібридних пташенят у цих поєднаннях схрещувань при порівняльно високому показникові запліднення яєць. Гібридні зародки у більшості випадків гинули на початкових етапах ембріогенезу. У врахованому нами випадку схрещування сірої гуски (♂) з канадською казаркою (♀) з 7 знесених яєць не вивелось ні одне пташеня, хоча зачаття відмічено у 4-х з них. Заслуговує уваги той факт, що гібриди канадської казарки з іншими представниками підродина гусячих характеризуються хорошим розвитком; маса одної гібридної пари - самки і самця - дорівнювала відповідно 3,57 і 5,07 кг.

Одержано гібриди між полярною гускою і канадською казаркою; по своєму розвитку вони більш схожі на канадську казарку з білим оперінням тулуба і голови. Судячи за літературними даними [9, 13, 14], гібриди такого роду схрещувань плідні, що підтверджено даними наших досліджень двох гібридних особин (♂, ♀) цієї комбінації схрещувань у варіанті полярна гуска (♂) х канадська казарка (♀). Від схрещування одної чистокровної самки канадської казарки з гібридним самцем протягом двох суміжних сезонів, одержано потомство другого покоління при порівняльно низькій заплідненості яєць і виведенні пташенят. У перший рік парування оба знесені яйця виявилися стерильними, у другий - з 4-х знесених, стерильним виявило-

ся тільки одне, хоча з 3-х запліднених вивелося лише одне пташеня; у двох яйцях гібридні зародки загинули на 6-7-й день ембріогенезу. Гібридна самка, яка парувалася з чистокровним самцем канадської казарки, приплоду не дала, хоча зачаття з дегенерацією зародків на 3-6 день ембріогенезу відмічено у 4-х із 21 врахованого яйця. Слід вказати на досить активне проходження овогенезу у тієї самки; воно проявилось у повторному відкладанні яєць після взяття попередньої кладки уже в кінці її насиджування.

В умовах напіввільного утримання дуже часто зустрічаються збочені пари гірської гуски з полярною. В комбінації гірська (♂) х сіра гуска (♀) в наших умовах одержано одного гібрида. Останній по своєму розвитку приближався до материнської форми з проміжним забарвленням пера тулуба і пістрявою (строкатою) головою. Ніяких ознак статевої активності по відношенню до самок вихідних видів не проявляв, на залицяння самок не реагував. Судячи за ознаками статевого диморфізму, він більше відповідав жіночій статі. Такого роду гібриди, судячи за літературними даними [15, 16], одержані у Дрезденському зоопарку, хоча про їх плідність нічого не сказано. Можна допустити, що, як і в нашому випадку, вони були безплідні.

Про існування гібридів між гірською і полярною гускою в літературі поки що нічого не згадується. У результаті дослідження яйцекладок двох збочених пар у варіанті гірська (♂) х полярна гуска (♀), встановлено, що гібридизація у цій комбінації можлива; з 8-ми яєць, одержаних від цих двох пар (по 4 яйця кожна), одно виявилось стерильним, 7 запліднених; у 4-х яйцях зародки загинули на 3-5-й день

ембріогенезу, в одному - уже зовсім сформованим, і тільки з одного яйця вивелося гібридне пташеня. На жаль воно загинуло у молодому віці, тому про відтворювальну здатність гібридів цієї комбінації схрещування говорити поки що не доводиться. Поза увагою лишаються результати схрещування білошиї гуски (*Anser canagicus* Sw.) з іншими представниками підродина *Anserinae*. Судячи за літературними даними, про такі схрещування поки що нічого не згадується.

Матеріали і методи

Користуючись наявністю цього виду диких гусей, ми провели досліди по схрещуванню з іншими суміжними видами цієї таксономічної групи. У процесі досліджень вели спостереження за строками проявлення у них статевої активності, статевою зацікавленістю партнерами інших видів, парування з ними, заплідненістю відкладених яєць, виведенням та розвитком гібридних пташенят, їх відтворювальною здатністю тощо. Останній показник вивчали методом природного їх парування з чистокровними особинами відправних, а також інших споріднених видів. При відсутності позитивних результатів вивчали морфогенетичний стан гонад одержаних гібридів, показники проходження спермато- і овогенезу, повноцінність генеративних елементів. З метою вивчення характеру спадкування окремих ознак у одержаних гібридів вивчали показники маси тіла гібридів у порівнянні з такими вихідних видів, проміри окремих статей, окрас пір'яного покриву розвитку та вагові показники внутрішніх органів. Останні аналізували у порівняльному аспекті як абсолютних, так і відносних величинах виражених у

проміле (‰) по методиці Шварца і соавт. [17]

Результати та обговорення

У результаті проведених досліджень встановлено, що формування шлюбних пар з використанням цього виду гусячих у великій мірі сприяла відсутність статевих партнерів - самок свого виду. Наявні самці (8 особин) з перших днів перебування у загальному стаді гусей, яке нараховувало у цей період приблизно 400-500 особин 10-12-ти видів, основну увагу почали приділяти самкам гірської та у меншій мірі сірої і полярної гуски. Парування у першій комбінації схрещувань [білошия ♂ x гірська ♀] проходило досить успішно; заплідненість знесених яєць знаходилася майже на рівні показників чистокровного розведення при дещо заниженому показникові виведення пташенят. Розвиток одержаних гібридів проходив нормально; їх маса у дорослому стані становила в середньому $2,98 \pm 0,11$ кг з коливаннями у межах 2,5-3,5 кг ($n=7$, усі ♂♂), що на 0,5 кг більше, ніж у гірської гуски, середня вага якої становить $2,37 \pm 0,08$ кг, у т.ч. самців 2,46 ($n=2$) і самок 2,27 кг ($n=2$). Першою і найбільш цікавою особливістю цього варіанту схрещувань являється те, що одержані гібриди були представлені в основному особинами чоловічої статі. Можна допустити, що, враховуючи дещо підвищений показник дегенерації гібридних зародків, елімінація особин жіночої статі проходила в ембріональний період.

По зовнішнім ознакам від гусей вихідних видів вони відрізняються характером забарвлення оперіння голови і шиї. Як у білошиї гуски, голова у них покрита білим оперінням з вкраплен-

нями поодиноких темних пір'їн на її верхівці, що приближає їх до білошиї гуски; по боках шиї у краніальному напрямі піднімається темна, стрілоподібна полоса, верхівка якої досягає половини її (шиї) довжини. Загальне оперіння тулуба дещо темніше, ніж у гірської гуски, колір дзьоба і ніг, як і у гірської гуски, світло-жовтого кольору.

Гібридні самці цієї комбінації і цього варіанту схрещувань у статевому відношенні досить активні й успішно паруються з самками гірської, полярної і сірої гуски. Що стосується повноцінності сперматогенезу, то, хоча він закінчується утворенням порівняльно великої кількості сперміїв, у більшості випадків вони паталогічні. Із 4-х самців, досліджених у сезон парування цього виду птахів, наявність невеликої кількості нормальних сперміїв відмічена тільки у одного; у трьох він закінчувався утворенням тільки паталогічних, хоча рухомих сперміїв, в основному карликових форм, з деформацією головки спермія, жгутика тощо.

Про інтенсивність сперматогенезу гібридних самців цієї комбінації схрещувань свідчать показники збільшення маси їх сім'яників у період активізації статевих процесів, як і в особин вихідних видів. У самців, досліджених у грудні-січні, їх маса коливалась у межах 0,312-0,443 г, у той час як у самців, досліджених протягом весняного періоду - періоду активізації сперматогенезу ($n=3$), вона становила в середньому 4,4 з коливаннями у межах 3,2-5,4 г, тобто у 10-12 разів більше.

В результаті подальшого парування плідних самців з самками гірської гуски одержано гібридне потомство наступних поколінь при досить висо-

кій заплідненості яєць (85,7%) та виведенню пташенят (66,6%). Одержані гібриди виявилися також плідними як по чоловічій, так і жіночій лінії. За зовнішнім виглядом вони майже не відрізнялися від чистокровних особин гірської гуски. Оперіння їх тулуба, як і у гібридів I покоління, більш темне, ніж у гірської гуски, походить на батьківське. Оперіння нижньої частини шиї темне з краплями (врозкидку) поодинокими білими пір'їн. Оперіння верхньої частини шиї та голови біле з краплями (також у розкидку) поодинокими чорними пір'їн, особливо на "затилку", біля основи дзьоба, за очима та на шиї. Що ж стосується гібридних самок I покоління, то вони, як уже вказувалося вище, у цьому варіанті схрещувань, появляються дуже рідко і, судячи за їх пасивною поведінкою, безплідні. Вони, хоча і парувалися з гібридними самцями вихідних видів, але інстинкту гніздування не проявляли і не неслись.

Літературних даних відносно одержання гібридів у цій комбінації схрещувань і їх відтворювальної здатності ми не найшли. Немає ніяких даних і відносно одержання гібридів між білошиєю, сірою та полярною гускою. У наших дослідах, незважаючи на існування стійких шлюбних пар у варіанті білошиєї (♂) х полярної (♀) та білошиєї (♂) х сірої гуски (♀), гібридів не одержано, хоча, судячи за станом насиджених яєць, одержаних у цих поєднаннях, в обох випадках мало місце зачаття гібридних зародків з їх дегенерацією на початкових стадіях ембріогенезу. Не одержано гібридів і в результаті парувань самок полярної гуски з гібридними самцями комбінації білошия (♂) х гірська (♀) гуска, хоча запліднення яєць відмічено у 9-ти з

18-ти одержаних від 4-х шлюбних пар, усі зародки загинули на початкових стадіях ембріогенезу (2-5-й день інкубації).

Деякі кращі результати одержані при схрещуванні гібридних самців з сірою гускою. Із 41 яйця, одержаного від 3-х шлюбних пар, заплідненими виявилися 12 з яких вивелося 6 гусенят; у 4-х яйцях зародки загинули на 3-7-й день ембріогенезу і у двох - на 17-25-й, майже повністю зформованими.

Враховуючи низькі показники сперматогенезу окремих самців, тут слід зупинитися на результатах запліднення та виведення гібридних пташенят у окремих шлюбних пар. Від першої пари протягом 4-х суміжних сезонів одержано 19 яєць, з яких заплідненими виявилось 5 (27,3%) і зародки яких загинули на різних етапах ембріогенезу. У другій парі з 10-ти яєць заплідненими виявилось 6 й усі вони розвивалися нормально - народило 6 гібридних гусенят. Від 3-ої пари за три сезони (3 яйцекладки) одержано 18 яєць; на жаль, 17 із них виявилось стерильними і тільки в одному відмічено зачаття з дегенерацією зародка на початкових стадіях розвитку. Ці дані свідчать у першу чергу про різні ступені плідності (чи безпліддя) гібридних самців, біологічної повноцінності гамет, зокрема спермів, яка у великій мірі визначає розвиток гібридних зародків, їх подальшу судьбу протягом ембріонального розвитку.

Одержані гібриди у цьому варіанті схрещувань по своєму розвитку займали проміжне положення між вихідною гібридною формою білошиєї х гірської гуски та сірою гускою (3,34 - 3,75 кг), з темним (як у сірої гуски) оперінням тулуба, шиї та більшої час-

тини голови (каудально), і тільки у передній її частині, позаду дзьоба, спостерігалися фігурні білі та пістряві плями, які обрамляли дзьоб і очі. Колір дзьоба і ніг були червоні, як у сірої гуски. Дані спостережень за статевою поведінкою цих гібридів, результатами їх паруваль, відкладання та інкубації яєць, ембріонального розвитку гібридів, свідчать про те, що у більшості випадків вони плідні як по жіночій, так і чоловічій лінії, хоча показники ці у порівнянні з вихідними видами значно нищі, що обумовлено, мабуть,

показниками біологічної повноцінності сперміїв, їх запліднюючої здатності, генетичної структури хромосом тощо.

Закінчуючи гібридологічний аналіз у межах цієї групи гусячих, слід зупинитися ще на розвитку одержаних гібридів, спадкуванню окремих ознак, екстер'єрних та інтер'єрних показників. Судячи за показниками розвитку, гібриди I покоління, одержані в комбінації білошия (♂) x гірська (♀) гуска, характеризуються значно більшою масою у порівнянні з вихідними видами (таблиця 1); вона становить

Таблиця 1. Показники екстер'єрних промірів гібридів білошиї x гірської гуски у порівнянні з вихідними видами

Показники	Вид, гібридна форма гусей					
	Білошия гуска (n=3, усі ♂♂)	Гірська гуска (n=4; 2 ♂♂ і 2 ♀♀)	Гібриди з 1/2 крові білошиї і 1/2 гірської гуски (n=7, усі ♂♂)	Гібриди з 1/4 крові білошиї і гірської (n=2, обидві ♀♀)	Гібриди з 1/2 крові сірої, 1/4 білошиї і 1/4 гірської гуски (n=2, обидві ♀♀)	Сіра гуска (n=7)
Вага птиці	1,83±0,17	2,37±0,08	2,98±0,11	2,56	3,54	3,22±0,20
Довжина: дзьоба	4,16±0,17	5,02±0,02	5,43±0,15	5,25	5,75	6,87±0,25
голови	6,66±0,97	7,5±0,45	8,00±0,21	8,00	8,75	7,79±0,65
шиї	19,33±0,33	24,25±4,12	23,14±1,45	23,50	25,50	25,08±1,00
тулуба	24,33±0,05	29,00±2,12	29,43±1,32	25,50	24,50	30,96±3,21
хвоста	16,16±0,88	16,00±1,58	17,00±1,13	18,50	15,00	15,08±0,70
бедра	8,5	8,12±0,83	9,71±0,53	9,00	10,50	9,91±0,30
гомілки	13,00±0,57	15,00±0,58	15,36±0,32	14,50	13,75	14,91±0,57
цівки	8,33±0,33	8,75±0,63	8,71±0,03	8,00	7,50	8,54±0,55
в/пальця	7,66±0,33	7,75±0,25	7,78±0,12	8,00	8,50	8,79±0,24
крила в цілому	39	46,00±0,38	44,70±0,79	40,00	43,00	40,65±0,52
у т.ч. плеча	-	15,50±0,29	14,78±0,43	15,00	16,75	16,08±0,53
передпліччя	-	17,00±0,00	16,57±0,43	16,00	16,75	16,74±0,74
кисті	-	13,50±0,87	13,36±1,52	9,00	9,50	7,83±0,30
Обхват цівки	-	3,75±0,14	4,00±0,15	3,50	4,50	4,50±0,32
Обхват грудей	42	44,25±0,63	43,21±1,19	38,0	39,50	44,21±1,92
Глибина грудей	11	14,90±0,64	13,07±0,27	13,75	13,00	13,62±0,62

2,98±0,11 кг, у той час як у вихідних видів - білошиї - 1,83±0,17 і гірської гуски - 2,37±0,08 кг.

У порівнянні з білошиєю гускою вони виділяються значно більшими промірами усіх статей; у порівнянні з гірською гускою - перевищують останню за довжиною голови, дзьоба, шиї, хвоста, бедра, гомілки та обхвату цівки. За промірами інших статей вони прирівнюються або уступають таким гірської гуски.

Збільшення частки крові у гібридів II покоління, одержаних шляхом схрещування гібридних самців з самками гірської гуски, призводить до зменше-

ння більшості цих показників, що можна відмітити при порівнянні з чистокровними самками гірської гуски. Аналізуючи їх (на прикладі двох наявних самок), можна відмітити, що за живою масою вони дещо перевищують (2,27 кг), а за лінійними промірами окремих статей, навпаки, уступають таким чистокровних особин (самок).

Потрійні гібриди, одержані шляхом схрещування гібридних самців I покоління з самками сірої гуски за своїм розвитком значно перевищують як чистокровних особин гірської гуски, так і гібридів I та II покоління. Їх жива

Таблиця 2. Маса внутрішніх органів гібридів білошиї х гірської х сірої гуски (абсолютна, г /відносна, %) у порівнянні з вихідними видами

Показники	Вид, гібридна форма				
	Білошия гуска (n=1) ♂	Гірська гуска (n=3) 2 ♂♂, 1 ♀	Гібриди I покоління (n=5) всі ♂♂	Гібриди з 3/4 крові гірської і 1/4 білошиї гуски (n=2) обидві ♀♀	Гібриди з 1/2 сірої, 1/4 білошиї, 1/4 гірської гуски (n=2) обидві ♀♀
Вага: птиці	2,0	2,45±0,08	2,98±0,11	2,56	3,135
серця	<u>22.000</u> 0,011	<u>22.15±0.88</u> 0,0090	<u>23.22±2.16</u> 0,0077	<u>20.000</u> 0,0078	<u>16.500</u> 0,526
печінки	<u>81.00</u> 4,05	<u>71.40±3.81</u> 2,914	<u>51.08±7.20</u> 1,714	<u>61.500</u> 2,402	<u>39.250</u> 1,273
легенів	<u>27.000</u> 0,013	<u>31.57±3.46</u> 0,0128	<u>32.38±1.42</u> 0,0108	<u>32.25</u> 0,0125	<u>18.250</u> 0,587
селезінки	<u>2.70</u> 1,35	<u>2.50±0.29</u> 1,020	<u>2.50±0.53</u> 0,838	<u>1.950</u> 0,761	<u>1.100</u> 0,035
нирок	<u>29.700</u> 1,485	<u>2.5±0.29</u> 1,020	<u>2.50±0.53</u> 0,838	<u>16.800</u> 0,656	<u>8.000</u> 0,256
м'язового шлунку	<u>65.00</u> 3,25	<u>81.25±0.73</u> 3,316	<u>61.54±1.37</u> 2,065	<u>67.600</u> 2,640	<u>79.000</u> 2,563
залозистого шлунку	<u>16.00</u> 0,825	<u>19.25±0.82</u> 0,785	<u>13.92±2.96</u> 0,467	<u>0.845</u> 0,330	<u>12.500</u> 0,405
тонкого відділу кишки	<u>37.00</u> 1,86	<u>43.320</u> 1,768	<u>42.490</u> 1,425	<u>39.900</u> 1,558	<u>28.000</u> 0,908
товстого відділу кишки	<u>12.20</u> 0,61	<u>12.900</u> 0,526	<u>12.47</u> 0,418	<u>10.000</u> 0,390	<u>10.500</u> 0,340

маса становить 3,54 (3,34-3,75) кг. Лінійні показники окремих статей замітно перевищують аналогічні показники гібридів I і II покоління гуски білошиєї з гірською та вихідних видів і значно уступають таким сірої гуски, жива маса якої дорівнює $3,22 \pm 0,2$ кг.

Що стосується показників розвитку внутрішніх органів, то вони визначаються в основному загальним розвитком одержаних гібридів і у великій мірі обумовлюються розвитком внутрішніх органів вихідних видів (таблиця 2).

Враховуючи це, при вивченні розвитку окремих органів, ми використовували відносні показники, які характеризують відношення маси того чи іншого органу до загальної маси тварини, вираженної у проміле (‰), за методикою С. С. Шварца і співавторів [17]. Згідно з цими даними найкраща забезпеченість маси тіла масою серця, печінки, селезінки, залозистого шлунку, тонкого та товстого відділу кишок відмічена у білошиєї гуски, маса якої значно уступає такій як сірої гуски, так і гібридів I та II покоління і становить лише 2 кг (врахована одна особина). Дещо менші показники відносної маси цих органів відмічені у гірської гуски, маса якої становить 2,45 кг, і набагато меншими - гібриди I покоління, жива маса яких становить 2,98 кг. У гібридів II покоління, одержаних у результаті схрещування напівкровних гібридних самців з чистокровними самками гірської гуски, відносна маса окремих органів (серця, легенів, печінки, м'язового шлунку та тонкого відділу кишок) значно збільшується, прирівнюючись до аналогічних показників гірської гуски, що обумовлено, мабуть, пониженням загальної маси птиці; частина ж (нирки, залозистий відділ кишечника, шлунок та

товстий кишечник) продовжує понижатися.

На підставі проведеного нами аналізу гібридизаційних процесів при схрещуванні окремих представників гусячих, і зокрема 3-х останніх поєднань, можна висказати припущення, що вона (результативність) у великій мірі визначається генеалогічною спорідненістю окремих видів, а також можливістю їх схрещування. Відсутність позитивних результатів при схрещуванні білошиєї з полярною і сірою гускою вказує на значну їх філогенетичну відокремленість. Одночасно більш успішні показники при схрещуванні гібридних самців білошиєї х гірської гуски з сірою гускою у порівнянні з полярною, свідчать про те, що остання більш віддалена від двох попередніх. Про це свідчать і результати схрещувань гірської гуски з сірою та полярною. У першому випадку одержано безплідне гібридне потомство, у другому (гірська х полярна) - його не одержано, хоча запліднення невеликої кількості яєць з відмиранням зародків на ранніх стадіях розвитку спостерігається. Одночасно заслуговує уваги той факт, що у комбінації полярна х сіра гуска одержані зовсім плідні гібриди, а це вже свідчить про дію більш глибоких механізмів генетичного характеру на рівні хромосомних комплексів, які сприяють (чи перешкоджають) нормальному проходженню гібридизаційних процесів і одержанню гібридів (плідних, чи безплідних), або, по крайній мірі, заплідненню яєць з подальшим відмиранням гібридних зародків на різних етапах ембріогенезу, тим більше, що зачаття гібридних зародків має місце майже в усіх випадках віддалених схрещувань гусячих.

Перелік літератури

1. Стеклєнев Е. П. Отдаленная гибридикация отдельных представителей семейства утиных (Anatidae) // Цитология и генетика, 1993. -27. -6.-С. 53-61.
2. Antonius O. Bemerkungen uber Bastarde und Bastardzucht // Biol. Gen. - 1933.- № 9.- P. 39-47.
3. Berry Y. Synthetic Canada Geese // Avicult Mag., 5th Ser. - 1942. - № 7. - P. 85-86.
4. Fletcher A.W.E. Cross between Canada Gander and Domestic Chinese Goose // Avicult. Mag. - 1956. - 62. - P. 196-197.
5. Luhmann M. Uber Unfruchtbarkeit und gegenseitige Abneigung bei Gansbastarden. Neue Ergebnisse und Probleme der Zoologie. Leipzig: Akad. Verlagsgesellschaft Geest and Porting, K.- G. - 1953.-P. 538-542.
6. Ackerman K. Tierbastarde. Zusammenfassung der bisherigen Beobachtungen im Tierreiche nebst Literaturnachweisen. 2. Teil: die Wierbeltiere. - Kassel, 1896. - 79 p.
7. Hopkinson E. Records of birds bred in captivity. - London, 1926. - 330 p.
8. Nagy E. Uber Gansbastarde. Leipzig: Akad. Verlagsgesellschaft Geest a. Porting, K. - G.- 1950. -P. 256-266.
9. Sibley C.L. Hybrids of and with North American Anatidae // C.R.IX Congr. orn.int. - Rouen, 1938.-P. 324-335.
10. Scott P. The Waterfowl Registry // Avicult. Mag. - 1947. - № 52. -P. 30-34.
11. Lonnberg E. Notes on two interesting Goose Hybrids // Ark. Zool. - 1937.- 29, № 8.-P. 8.
12. Taibel A. M. Contributo alla sistematica della famiglia "Columbidae" // Riv. Biol. - 1934. - 16. - P. 128-141.
13. Davis M. Blue x Canada Goose Hybrid // Auk. - 1945. - 62.- P. 636.
14. Nelsen H. K. Hybridization of Canada Geese with Blue Geese in the wild // Auk. -1952.- 69. -P. 425-428.
15. Petzsch H. Uber den wissenschaftlichen Wert von Wirbeltierbastarden aus Zoologischen Garten und Blendlinge Zwischen Yak und Schottischem Hochlandrind In Dresdner Zoo // Zool. Gart., Lpz. - 1951.- №18.- P. 183-196.
16. Severn Wildlife Trust. Correspondance With Peter Scott and Hugh Boyd. - Cited Gray A.P., Farnham Royal Bucks: Commonwealth Agricultural Bureau. - Edinburg, 1958. - 390p.
17. Шварц С. С., Смирнов В. С., Добринский Л. Н. Метод морфофизиологических индикаторов в экологии наземных позвоночных. Свердловск, 1968. - 387 с.

Представлено В. П. Буркатом
Надійшла 21.07.2005 р.

ГИБРИДИЗАЦИЯ БЕЛОШЕЕГО ГУСЯ (*ANSER CANAGICUS* SW.) С ДРУГИМИ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ ПОДСЕМЕЙСТВА ГУСИНЫХ (*ANSERINAE*)

Е.П. Стеклєнев

Биосферный заповедник
"Аскания-Нова" им. Ф. Э. Фальц-Фейна,
75230, Херсонская обл., пгт. Аскания-Нова,
ул. Фрунзе, 13

Результативность скрещивания отдельных представителей подсемейства гусиных (*Anserinae*) определяется генеалогической близостью отдельных видов в зоологическом ряду. В результате скрещивания белощеого гуся (♂) с горным (♀) получены гибриды, представленные в основном особями мужского пола с пониженной плодовитостью; сперматогенез их гонад заканчивается в большинстве случаев образованием небольшого количества патологических форм спермиев. В результате скрещивания отдельных плодовых самцов с самками горного гуся получены гибриды II поколения, плодовые по мужской и женской линии; с самками серого гуся - тройные плодовые гибриды женского пола, характеризующиеся хорошими показателями развития.

Ключевые слова: гусиные, белощеий, горный, серый гусь, гибридикация, плодовитость/бесплодие, развитие, сперматогенез.

HYBRIDIZATION OF THE EMPEROR GOOSE (*ANSER CANAGICUS* SW.) WITH THE OTHER REPRESENTATIVES OF *ANSERINAE* SUBFAMILY

E. P. Steklenev

Falz-Fein Biosphere Reserve "Askania Nova",
75230, Kherson region, Askania Nova,
Frunze Street, 13

The successful crossing of representatives of *Anserinae* subfamily is determined by their genealogical propinquity in the zoological row. The result of crossing of the emperor goose (*Anser canagicus*) (♂) with the bar - headed goose (*Anser indicus*) (♀) is the interspecies hybrids; the biggest part of them are males which have low fertility. Spermatogenesis of their gonads in most cases finished with the formation of small quantity of pathological sper-

miens. The result of crossing of some fertile hybrid with females of the bar- headed goose is the fertile hybrids of II generation; the crossing of these males with females of grey goose (*Anser anser*) - triple, also fertile (all ♀♀) and good developed hybrids.

Key words: *Anserinae*, emperor, bar-headed, grey goose, hybridization, fertility, developing, spermatogenesis.

УДК 633.111: 633.1: 631.527

ОБҐРУНТУВАННЯ ЕКОЛОГО-ГЕНЕТИЧНИХ ОСНОВ АДАПТИВНОЇ СЕЛЕКЦІЇ ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ

В. В. БАЗАЛІЙ

Херсонський державний аграрний університет
Україна, 73006, Херсон, вул. Рози Люксембург, 23,
тел. (0552) 510949; e-mail: office@ksau.kherson.ua

Аналізуючи численні дослідження вчених в області проблем адаптивної селекції сільськогосподарських культур можна зробити висновок, що адаптивні ознаки будь-якого організму і їхній прояв у рослинному ценозі контролюються не окремими генами, а генотипом в цілому. Спектр і кількість алелей у сортів і ліній з підвищеною гомеостатичною характеристикою ширший, ніж у сортів, недостатньо адаптивних до несприятливих умов довкілля. Визначення параметрів пластичності і стабільності кількісних ознак за різних умов вирощування сортів і гібридів сільськогосподарських культур дає можливість розробити комплексні заходи оцінки селекційно - генетичних процесів у гібридних популяцій рослин.

Ключові слова: озима пшениця, адаптивна селекція, кількісні ознаки

Основною метою селекційної роботи є досягнення генетичного прогресу в зростанні продуктивності одиниці площі посіву рослин і підвищення якості продукції. Кожний новий сорт повинен поєднувати ряд спадкових факторів, які контролюють різні біологічні і господарські ознаки. Серед останніх особливе місце займають такі, що забезпечують стабільність урожайності та інших цінних ознак при зміні умов довкілля. Ця стабільність у часі і просторі зумовлюється генетичними механізмами гомеостазу або створюється за рахунок власних регуляторних механізмів [1, 2].

Ідея про існування захисної системи внутрішнього середовища організму від зовнішнього впливу, спрямованої на збереження інтенсивних життєвих функцій, була висунута Бернардом більше століття тому [3], а термін "гомеостаз" уперше запропонований Кенноном [4].

На нашу думку [5], гомеостаз характеризується лабільною здатністю генотипу сорту зводити до мінімуму наслідки несприятливих умов довкілля в різні періоди розвитку рослин. Це забезпечується здатністю ге-

нотипу підтримувати стабільність основних життєвих процесів при зміні умов вирощування. Стабільність залежить від уже добре вивчених механізмів стійкості до хвороб, шкідників, низьких негативних або високих позитивних температур. Крім цього, генетична захищеність рослинних організмів від шкідливого впливу довкілля залежить від комплексу фізіолого-біохімічних факторів внутрішньоклітинного обміну речовин, які ще не досить досліджені і становлять складну проблему в екологічній генетиці і селекції.

Деякі вчені [6 - 9] вважають, що гомеостаз - це універсальна система підтримки життєзабезпеченості організму, яка, по-перше, підтримує оптимальні умови його розвитку, по-друге, виконує еволюційну роль у стабілізації норми адаптивності, вони також характеризують гомеостаз як пристосованість ознак організму, які розкривають динаміку зміни реакції генотипу при мінливості умов середовища і зберігають відносно постійними свої функції.

Інші науковці [10 - 12] тримаються думки, що за рахунок модифікаційної мінливості в межах норми реакції організм одержує можливість більш або менш нормально функціонувати в мінливих умовах, і це визначає його онтогенетичну адаптацію.

Здатність до формування щільного ценозу у несприятливих умовах вирощування вважається ознакою вищої гомеостатичності сорту [13]. У цьому плані ще не використовуються належною мірою регуляторні можливості багатьох елементів системи рослинництва, частково це розробка нових технологій вирощування рослин з урахуванням не тільки гомеостазу індивідуального розвитку, але й го-

меостатичності окремих ознак у мінливих умовах довкілля [14 - 19].

На думку вчених [20, 21], добір на гомеостатичність продуктивності ефективніших в мінливих умовах довкілля порівняно з однотиповими. При цьому стабільність генотипу, формування якого відбувається у процесі селекційного процесу в рамках градієнта екологічних умов, порушується за зміни лімітуючих факторів довкілля.

Експериментально доведено можливість ефективного добору адаптивних генотипів на основ виявленої достовірної різниці між генотиповими і екологічними регресіями у популяціях пшениці [22]. При цьому продуктивнішою є популяція, яка представлена генотипами з розширеною адаптивною нормою реакції або в якій проходить природний добір генотипів, які добре пристосованих до конкретних умов вирощування, але в популяції повинен підтримуватись адаптивний поліморфізм [1, 23, 24].

Дубінін уперше обґрунтував принципи генетичного гомеостазу, завдячуючи якому частоти появи генів у популяції змінювалися під впливом умов довкілля або штучного добору, зберігаючи динамічну стійкість. Генетичний гомеостаз пов'язаний з генетичною мінливістю популяції і визначає ступінь її можливої реакції на добір. Крім цього, гомеостаз розвитку організмів і популяційний гомеостаз, як правило, визначаються як незалежні характеристики явища адаптації. Дубінін також вважає, що коли б частота виникнення мутацій і рекомбінацій та їхня різноманітність виходили за межі допустимих пластичністю існуючих пристосовань і необхідних потенцій для майбутньої еволюції, то популяції і види загинули б під тиском негативних

змін. Тому адаптивна еволюція можлива за умов обмежень у появі спадкової мінливості. При цьому необхідно визнати, що умови середовища не лише елімують непристосовані біоти-пи, але й формують саму генетичну систему популяцій [25, 26].

Більшість учених [27 - 29] стверджує, що природний добір може більш чітко визначити різницю між біотипами популяцій за їхньою адаптивністю. Виходячи з цього припущення, був запропонований метод еволюційної селекції, який одержав широку популярність [30, 31].

На думку науковців, терміни "пластичність" і "стабільність" використовують для характеристики окремих ознак (або їхніх груп) у рослин [14, 32]. У зв'язку з цим пластичність рослин, а також їхню стабільність у мінливих екологічних умовах необхідно розглядати як основні пристосувальні ознаки живих організмів. Заради справедливості необхідно відмітити, що набагато раніше вченими доведено, що пластичність рослин, або відсутність стабільності, у багатьох випадках може мати адаптивне значення, що призводить до формування різних фенотипів, причому інколи у генетично ідентичних рослин [14].

У той же час дослідники констатують, що терміном "пластичність" необхідно позначати головним чином модифікаційну мінливість, хоча, як вони вважають, більшість типів пластичності можуть дати господарсько-корисні адаптивні ефекти [33 - 35].

Нами не випадково порушено питання трактування термінології показників, які мають пряме відношення до реалізації програм адаптивної селекції. Справа в тому, що в зарубіжній і вітчизняній літературі викорис-

товується багато понять: стабільність, пластичність, гомеостатичність, загальна і специфічна адаптивна здатність тощо. Є випадки, коли дані терміни протиставляються або вважаються однозначними, а інколи немовби доповнюють один одного частково це стосується термінів "стабільність" і "пластичність".

У зарубіжній літературі для визначення норми реакції генотипу в мінливих умовах докілья перевага надається терміну "стабільність" у вітчизняній - популярнішим є "пластичність" [36 - 39].

При використанні того чи іншого трактування термінів головне - це визначити для них боло́ну сутність, щоб збігалося їхнє біологічне тлумачення. При цьому пластичність і стабільність характеризують протилежні ознаки організму як розкивають динаміку зміни реакції генотипу на зміни умов довкілля і дозволяють зберігати відносно незмінним свої функції [40].

Показник стабільності того чи іншої ознаки можна розглядати як у широкому, так і вузькому розумінні. У вузькому розумінні стабільним є генотип зі стійкою реалізацією - йому при амальна реакція на поліпшення або погіршення умов довкілля, а в широкому - стабільним вважається такий генотип на розвиток якого зміна умов приносить незначний вплив [42].

У біологічному сенсі стабільність - це здатність організму мінімально взаємодіяти з флуктуаціями довкілля в агрономічному - ма й на меншу дисперсію ознак організму у мінливих умовах середовища [43].

У генетичному розумінні стабільність необхідно сприймати як ступінь модифікації ознак, яка дозволяє орга-

нізму пристосовуватися до цих умов, а в агрономічному - це рівень розповсюдження сорту у виробництві [7, 44].

Деякі вчені вважають, що необхідно підтримувати те тлумачення пластичності, яке вкладають у нього селекціонери - розуміти під пластичністю здатність сорту до поєднання достатньо високої врожайності з її стабільністю в мінливих умовах, а генотипи з підвищеною реакцією на умови вирощування необхідно називати чутливими до цих умов [19, 45].

На думку багатьох учених, пластичність сорту - складне генетичне явище, яке забезпечується спадковою нормою реакції, широтою спектра генів, відповідальних за адаптацію до довкілля. У зв'язку з цим було запропоновано інтенсивним вважати той сорт, який за середнім максимальним урожаєм в оптимальний строк посіву кожного року займає перше місце серед вивчених; пластичним - сорт, який займає перше місце за середнім урожаєм з урахуванням усіх строків посіву і років вивчення; стабільним - сорт з найменшою різницею між максимальним і мінімальним урожаєм залежно від строку посіву і року вивчення [38, 39, 46, 47].

На основі аналізу протилежності трактування термінів адаптивної селекції, були запропоновані такі формулювання:

- пластичність - це міра і спрямування реакції генотипу на коливання умов довкілля (ступінь модифікованості ознаки під впливом зовнішніх факторів);

- стабільність (у вузькому розумінні) - стійкість реалізації генотипом реакції на зміну умов середовища (або стабільність реалізації генотипом пластичності);

- стабільність (у широкому розумінні) - це здатність знижувати вплив лімітуючих факторів (іншими словами - гомеостатичність генотипу, або здатність мати мінімальну фенотипову дисперсію при зміні умов вирощування) [36].

Нині проблема підвищення рівня адаптації є центральною в еволюційній теорії, тому природно, що навколо трактування цього питання існує багато суперечливих теорій.

Деякі вчені концентрували увагу на системах онтогенетичної адаптації (фізіологічної, ембріологічної тощо) [48, 49]. Інші дослідники віддають перевагу філогенетичній адаптації (популяційній, порівняльній та ін.) [50, 51].

Таким чином, ознака адаптивності зводиться тільки до однієї екологічної стійкості організмів, а для характеристики репродуктивної ефективності використовують термін "пристосування", а не "адаптація" [52]. При цьому явище адаптації розглядається лише при онтогенезі, а пристосування - при популяційній пристосовуваності [51].

При аналізі суперечливості понять термінології очевидно, що адаптивний потенціал рослин формується за рахунок взаємозв'язку онтогенетичної і філогенетичної адаптації. При цьому адаптивнішими є ті форми у мінливих умовах довкілля, які мають більшу фенотипову мінливість.

Термін "адаптація" дуже місткий, має багато значень і, на думку багатьох учених, характеризує тільки феноменологію явища і не передбачає пояснення механізмів, що розкривають його суть [26, 44, 53].

На думку дослідників, адаптація - явище загальнобіологічне, яке в умовах еволюції здійснюється безпосередньо під впливом факторів

прогресивної мінливості і добору, а при взаємозв'язку з селекцією є одним з основних чинників розвитку екологічної стратегії сучасних і майбутніх технологій культивування сільськогосподарських рослин [44].

Адаптація може носити широкий і вузький характер, причому адаптація в широкому значенні виникає, як правило, в результаті анаморфозів і забезпечує пристосування організмів до різних умов середовища. Звуження адаптивної норми реакції, на думку Шмальгаузена [54], забезпечує спеціалізацію організму у конкретних умовах довкілля.

Згідно з інформацією, адаптація є специфічною і загальною. Специфічна адаптація забезпечує генотипові високу продуктивність у мінливих умовах середовища, а загальна адаптація характеризує його здатність утворювати ряд фенотипів, адаптованих до різних умов довкілля [14].

Таким чином, зважаючи на велику кількість пристосувань рослинного організму до довкілля, для практичної селекції більш вдалим є поняття "адаптивність" і "адаптованість". Під першим слід розуміти здатність організму пристосовуватися до будь-якого середовища, під другим - ефективне використання факторів середовища, які сприяють росту і розвитку організму [55, 56].

Серед різноманітних сортів сільськогосподарських культур лише деякі з них формують відносно стабільні врожаї в розрізі різних років і зон вирощування, а переважна кількість їх досить чутлива до екстремальних умов і тому різко знижує рівень можливого врожаю. Характерною особливістю сортів озимої пшениці інтенсивного типу є висока вимогливість до грун-

тово-кліматичних, агротехнічних і інших умов вирощування, за наявності яких вони можуть максимально реалізувати свій потенційний урожай.

Разом з тим висока чутливість до сприятливих умов вирощування часто обмежує ареал розповсюдження сортів інтенсивного типу в інших, менш сприятливих екологічних зонах, де вони можуть і не дати позитивного результату. Тому поряд з подальшим підвищенням рівня продуктивності рослин озимої пшениці одним із основних напрямків селекції є створення сортів з підвищеним адаптивним потенціалом, який забезпечує їм екологічну стабільність.

Під адаптивним потенціалом необхідно розуміти здатність рослин пристосовуватися до різних умов довкілля за рахунок генотипової і модифікаційної (онтогенетичної) мінливості [57, 58].

На думку багатьох науковців, паралельно з підвищенням потенційної продуктивності пшениці спостерігається тенденція до зниження стабільності врожаю, таке положення вчені пояснюють недостатньою екологічною пластичністю сортів [59 - 62]. Особливо важливо, щоб сорти були достатньо стійкі до нерегульованих факторів середовища, тобто мали ознаку посухостійкості, зимостійкості, стійкості до хвороб і шкідників. З точки зору вчених, ці особливості сортів частково досягаються тоді, коли вразливі фази онтогенезу рослин не збігаються з критичними для них факторами довкілля [14, 63 - 65]. Крім цього, як показують дослідження інтенсивних сортів пшениці, сама по собі висока потенційна продуктивність рослин виступає як фактор, здатний значною мірою компенсувати недос-

татню стійкість до несприятливих умов довкілля, а висока урожайність протягом багатьох років може характеризувати відповідно високу адаптивність сорту до конкретних агроекологічних умов [66, 67].

На нашу думку, на сучасному рівні селекційної практики типовими і доскональними представниками різних екологічних зон є сорти, які дають у сприятливі роки дуже великі прибутки врожаю, а в посушливі роки - врожаї на рівні сортів більш ранніх сорто-замін [5].

Відомо, що сорт з середньою, але стабільною врожайністю економічно цінніший, ніж спеціалізований сорт з потенційно високою, але не стабільною врожайністю [59, 68]. Недостатній рівень екологічної стабільності сорту інколи при високому потенціалі продуктивності може значно зашкодити економіці господарства [69].

В нестійких екологічних умовах високий урожайний потенціал сорту втрачає свою цінність. У таких випадках екологічна стійкість і адаптивний потенціал є найважливішими факторами реалізації тих ознак, які закладено в моделі високоврожайного сорту [63, 64, 70].

Серед вчених існують різні міркування щодо способів подальшого підвищення врожайного і адаптивного потенціалів. На нашу думку, одне з них - використання феномену трансгресивної мінливості, ставлення до якого з боку селекціонерів і генетиків в основному позитивне. Разом з тим у практичній селекції це генетичне явище використовують ще недостатньо, оскільки розробка методів прогнозування трансгресивної мінливості недостатня.

У системі ознак, які визначають адаптивний потенціал рослин, важли-

ву роль має поведінка генотипів у різних ценотичних умовах, що дає можливість експериментального регулювання популяційної щільності посіву [71 - 73]. Ці ж автори одержали експериментальні дані, які вказують на певний внесок абіотичних факторів довкілля у прояв екологічних кореляцій. При цьому пом'якшення пресингу лімітуючих факторів збільшує ступінь кореляційного зв'язку інколи зміна фенотипових мов формування популяції модифіку вплив зовнішнього середовища, підвищує тісноту зв'язку зі змінною щільності ценозу. Підхід до сорту як єдиної саморегульованої цілосистеми дозволяє розглядати його як суперорганізм і використовувати для створення збалансованого гетерогенного організму сортової популяції.

Багато експериментальні дані показують, що збалансована суміш різних генотипів у сорті порівняно з однотиповим посівом може спричинити підвищення густоти стеблостою, стабільності урожайності, зниження враження хворобами [74 - 78]. У ценотичній селекції, яка передбачає ефективну реалізацію механізмів продуктивності ценотичного рівня, можна виділити такі напрямки, як створення гомогенних і гетерогенних сортів та, селекція їх для використання в багатоконпонентних спільнотах [43, 78]. При цьому перші з них відповідають аутоконкуренції, де відсутня генотипова різноманітність у ценозі, другі - алоконкуренції (присутня генотипова різноманітність). Встановлено, що в ценозі можуть проявлятися нові ефекти генетичних детермінант селекційно корисних ознак.

Таким чином адаптивність на рівні популяції дає позитивний внесок у толерантність до загушення, яка має

кореляційний ефект з ознаками цено-тичного рівня, частково з архітектонікою посіву.

В оглядовій статті звернено увагу на те, що більшість експериментальних робіт спрямована на вивчення впливу ознак на характер ценотичних стосунків, оцінка яких не пов'язана з конкретною детермінацією генами, і це створює труднощі в інтерпретації одержаних результатів [79].

Відомо багато робіт [80 - 83], виконаних з метою встановлення зв'язку між ознаками рослин і характером їхніх ценотичних відношень, у тому числі конкурентної взаємодії і величини конкурентної здатності. Відмічено корелятивний вплив висоти рослин на прояв продуктивності і її елементів в ценозі. Ознака низькорослості в гетерогенних популяціях пшениці виявляє таку ж дію [80, 84 - 87]. Гени низькорослості, крім прямої дії, впливають на деякі фенотипові ознаки, такі як щільність продуктивного стеблостою і фенотипову продуктивність. Так, за сприятливих умов гени *Rht 1* і *Rht 2* при оптимальній нормі посіву збільшують продуктивну куцистість порівняно зі своїми високорослими аналогами і, як наслідок цього, збільшується продуктивність ценозу [88 - 90]. У той же час ген *Rht 3* впливав негативно на щільність продуктивного стеблостою і відповідно на продуктивність ценозу в цілому [80].

При доборі пар для схрещування на основі максимально несхожих адаптивних ознак селекціонер повинен очікувати в розщеплюваних популяціях збільшення мінливості за ознаками адаптивності [91].

Доведено, що зворотна залежність між стійкістю біотипів і їхньою конкурентною здатністю не носить абсо-

лютного характеру і залежить від присутності в ценозі рослин з конкретними генами. Крім цього, алоконкурентні взаємовідносини залежно від погодних умов року впливають на перерозподіл пластичних речовин між господарсько корисними і некорисними частинами біомаси рослин [81].

У щільному ценозі, як правило, виникає конкуренція між органами рослин за асимілянти, вона зумовлює формування стеблостою і прояв генеративних ознак, при цьому генотипи, пристосовані до загущення посіву, формують високоефективний механізм добору на конкурентну здатність, яка забезпечує швидку елімінацію слабоконкурентних біотипів [12, 92, 93].

Основну інформацію про структуру агроценозу, яка відображує генотипову мінливість сорту, можна одержати на рівні головних компонентів продуктивності, при цьому кількість продуктивних стебел виконує компенсаторну роль у мінливих умовах довкілля, а продуктивність колоса виступає сортоспецифічною ознакою ценозу [13, 94, 95, 96].

Продуктивність - групова ознака, ознака системи, а не тільки одного біотипу. При реалізації генетичних потенцій продуктивність біотипу в популяції значною мірою втрачає своє самостійне значення [97]. Враховуючи це положення, можна стверджувати, що добір високопродуктивних форм з гетерогенної популяції і подальше їхнє дослідження в генетично однорідному посіві, як правило, призводить до вибраковування більшості форм як модифікацій, які лише при ценотичній взаємодії з іншими виявляють селекційно значимий ефект за продуктивністю [79, 101].

Більшість вчених проблему генетики гомеостазу намагається вирішити різними способами [98]:

1) розробкою методів у польових умовах для одержання повнішої інформації про дію і взаємодію генів, детермінуючих гомеостаз, і аналіз цієї взаємодії в градієнті довкілля за середнім значенням генотипів;

2) побудовою генетико-математичних моделей гомеостатичної поведінки сортів і їхніх гібридів на основі гіпотез про механізми гомеостазу.

На їхню думку, для одержання інформації про генетику гомеостазу необхідно визначити ступінь його вивченості і методи, які при цьому застосовують, тому що в літературних джерелах багато суперечливих поглядів на це питання [4, 6, 99]. Найрозповсюдженішим є використання коефіцієнта регресії даного сорту на індекс середовища [41, 100]. При цьому чим стабільніша ознака сорту, тим менший визначений за величиною коефіцієнта регресії кут нахилу лінії регресії до осі градієнта середовища, тобто він показує, наскільки змінюється значення *ознаки при переході від одного екологічного градієнта до іншого.*

У зв'язку з актуальністю питання оцінки екологічної пластичності зразків на різних етапах селекційного процесу необхідно провести їхнє дослідження в контрастних умовах довкілля (агрофон, густина і строки посіву тощо), використовуючи при цьому різноманітні параметри, які ідентифікують генотипи за ступенем екологічної пластичності [4, 59, 83]. Це дозволяє по-новому підійти до прогнозування гетерозису у рослин на фоні відсутності і наявності лімітуючих факторів довкілля [101]. З точки зору авторів [101], гетерозис підрозділяють на

гетерозис, що виникає в умовах екологічного або конкурентного домінування ростових процесів, і на гетерозис, який виникає при відсутності будь-яких лімітуючих факторів. Одержані експериментальні дані свідчать про те, що ефект гетерозису у гібридів F_1 за результативними ознаками виникає за рахунок перерозподілу генетичних формул при зміні лімітуючих факторів між компонентними ознаками.

Реакцію сортів пшениці можна оцінити за показником інтенсивності [83]. Іншим показником, який характеризує стійкість прояву гомеостатичних реакцій сорту в різних умовах зовнішнього середовища, є показник стійкості, тобто індекс стабільності [4]. Проаналізувавши різні методи оцінки адаптивності для окремо взятих сортів, нами виявлено, що показник стійкості індексу стабільності є більш інформативним, ніж середній індекс стабільності сорту на різних фонах [5].

Розподіл генетичних знань між факторіальною і кількісною генетикою умовний. Дійсно, для багатьох якісних і кількісних ознаках можна спостерігати різні варіації за інтенсивністю проявів. Вони, з позиції сучасних наукових поглядів, зумовлені різною експресивністю генів, а також дією генів-модифікаторів (полімерією), які у відповідних умовах спричиняють безперервний ряд фенотипових проявів [102, 103].

Кількісні ознаки характеризують найважливіші в утилітарному відношенні особливості культурних рослин, у тому числі величину і якість врожаю. У той же час в генетичному аспекті вони вивчені ще недостатньо, але наукова інформація з цього питання значна [103 - 106].

Уже багато зроблено в галузі математичного моделювання спадковості кількісних ознак [107]. Зумовлено це тим, що останні характеризуються значною мінливістю і залежністю від факторів довкілля. Їхнє вивчення потребує великого набору різних даних, які одержують шляхом значних витрат часу і праці. Відсутність простих інформативних засобів вивчення генетики кількісних ознак призвело до того, що основні спостереження дослідників були сконцентровані на використанні складних математичних методів [103, 107]. Як справедливо відмічають деякі учені, математизація праць дозволила виявити лише деякі закономірності процесів формоутворення в гібридних популяціях, однак обмежила можливості використання менделєвського методу аналізу кількісних ознак [103, 108]. Статистичні моделі успадкування кількісних ознак забезпечують, як правило, невелику генетичну інформацію про біологічні ознаки живих організмів, що обмежує сферу їхнього використання в практичній селекції [15].

З розроблених методів кількісної генетики досить широко використовується принцип розкладання загальної фенотипової дисперсії кількісної ознаки на складові компоненти з виділенням внеску генотипу у прояв ознаки. Існує можливість відокремити групу генів з усього алельного набору генотипу і пов'язати їхні функції з конкретними ознаками. Досліджують і шляхи використання генетичних параметрів мінливості кількісних ознак у селекційній практиці [7, 8, 105 - 109].

Ефективність добору генотипу за фенотипом залежить від того, наскільки добрані біотики будуть відтворю-

ватись у своїх нащадках. Для цього необхідно, щоб значення генотипової варіанси було значно вищим від прояву фенотипової [110].

Показником, який відображає співвідношення фенотипової і генотипової варіанс, є коефіцієнт спадковості в широкому розумінні, який характеризує доцільність добору корисних генотипів тоді, коли спадкова мінливість перевищує неспадкову.

Нині представлено достатню кількість методів розрахунку коефіцієнтів успадкування як у вузькому, так і в широкому розумінні. Більшість їх заснована на прямому зіставленні загальної генотипової варіанси (або її адитивної компоненти) і сумарної фенотипової дисперсії [111, 112].

Показники спадковості в широкому розумінні характеризують незалежність фенотипового прояву ознаки від мінливості умов середовища, а показники успадкованості у вузькому розумінні визначають генетичну гетерогенність популяції [99].

Більшість учених надає перевагу коефіцієнту успадкування у вузькому розумінні, яке розраховується в системі кореляцій "батьки-нащадки", оскільки високий ступінь кореляції одноіменних ознак "батьків" і "нащадків" свідчить про можливість ефективного добору за фенотипом батьківських форм [111, 112].

Нові експериментальні дані необхідні для розуміння шляхів реалізації генетичної інформації у нестійких умовах середовища, оскільки фенотип будь-якого організму формується в результаті взаємодії генів, одержаних від батьків, з зовнішнім середовищем, у якому організм розвивається і функціонує. Відомо, що зовнішні фактори можуть змінювати темп роз-

витку організму, а інколи і характер експресії генів [113].

Вивчення генетичного контролю ритму росту рослин пшениці в екстремальних умовах показало, що швидкість росту змінюється залежно від генотипу і умов довкілля. У зв'язку з цим можна передбачити, що зміна характеру спадковості розглянутої ознаки в процесі онтогенезу є однією з причин нестабільності генетичних параметрів за структурними елементами у рослин пшениці [114].

Стійкість процесів онтогенезу лежить в основі формування нормального фенотипу організму, а модифікаційне пристосування дозволяє йому залишатися життєдіяльним і давати нащадків за зміни умов довкілля, але сама здатність спричинювати неспадкову мінливість знаходиться під контролем генотипу [115, 116]. Під дією нових зовнішніх факторів у популяціях здійснюється добір і формування генетичних систем, функціонування яких передбачає ступінь модифікаційної мінливості цих популяцій. При цьому добір необхідних генотипів можливий лише при урахуванні специфічних особливостей лімітуючого фактора в даній екологічній ніші, якщо він не має особистої дисперсії [117].

Аналізуючи численні дослідження вчених, можна зробити такий висновок: урожайність, адаптивні ознаки будь-якого організму і їхній прояв у рослинному ценозі контролюються не окремими генами, а генотипом у цілому. Спектр і кількість алелів у сортів і ліній з підвищеною гомеостатичною характеристикою більш широкий, ніж у сортів, недостатньо адаптованих до несприятливих факторів довкілля. У стійкіших рослинах функціонують такі гени, які в окремі фази онтогенезу створюють

буферність проти руйнівної дії екстремальних факторів.

При зміні лімітуючих факторів довкілля змінюється і набір функціонуючих алелів, які формуються у процесі природного і штучного добору з вихідного селекційного матеріалу. Можна зробити висновок, що ознаки продуктивності і, особливо, адаптивні ознаки ще недостатньо вивчені в генетичному відношенні головним чином тому, що генетика практично відірвана від фізіології рослин. Генетична природа більшості адаптивних ознак, які одержали статус фізіологічних, ще не досить розроблена. Тільки подальше інтенсивне дослідження спеціальної і прикладної генетики, спрямоване на створення ефективних методів оцінки селекційного матеріалу, дозволить розкрити ще не пізнані резерви продуктивності і витривалості рослинного організму і дадуть селекціонерам нові засоби підвищення урожайного і адаптивного потенціалів.

Перелік літератури

1. Жученко А. А. Экологическая генетика культурных растений. - Кишинев: Штиинца. - 1980. - 588 с.
2. Жученко А. А. Эколого-генетические основы адаптивной системы селекции растений // Селекция и семеноводство. - 1999. - № 4. - С. 5-16.
3. Поупа О. Гомеостаз, развитие и адаптация // Журн. общ. биологии. - 1961. - 22. - № 1. - С. 3-8.
4. Хангильдин В. В. О принципах моделирования сортов интенсивного типа // Генетика количественных признаков сельскохозяйственных растений. - М. - 1978. - С. 111-116.
5. Орлюк А. П., Базалій В. В. Принципы трансгрессивной селекции пшеницы. - Херсон: Наддніпряньська правда. - 1998. - 274 с.
6. Жученко А. А. Стратегия адаптивной интенсификации растениеводства // С.-х. биология. - 1989. - № 1. - С. 3-17.

7. Литун П. П. Взаимодействие генотип-среда в генетических и селекционных исследованиях и способы его изучения // Проб. отбора и оценки селекционного материала. - К.: Наук. думка. - 1980. - С. 63-92.
8. Драгавцев В. А., Аверьянова А. Ф. Механизмы взаимодействия генотип-среда и гомеостаз количественных признаков растений // Генетика. - 1983. - 19. - № 11. - С. 1806 - 1810.
9. Пыльнев В. В. Адаптивность озимой пшеницы в процессе селекции на повышение зерновой продуктивности в условиях Степной зоны // С.-х. биология. - 1995. - № 1. - С. 41 - 50.
10. Питиримова М. А., Ткачев М. В., Подошкина Л. Б. и др. Норма реакции как мера адаптации генотипа к варьирующим условиям среды // Норма реакции растений и управление селекционным процессом. - Л.: Астрофизический НИИ. - 1982. - С. 38 - 44.
11. Беденко В. П., Уразалиев Р. А., Салимбаев А. У. К вопросу об оптимальной плотности агрофитоценоза озимой пшеницы // С.-х. биология. - 1987. - № 9. - С. 7 - 11.
12. Хангильдин В. В. Теоретическое обеспечение селекционного процесса // Генетико-физиологические основы селекции озимой мягкой пшеницы. - Одесса. - 1991. - С. 5 - 13.
13. Хангильдин В. В., Бирюков С. В. Проблема гомеостаза в генетико-селекционных исследованиях // Генетико-цитологические аспекты селекции сельскохозяйственных растений. - Одесса. - 1984. - С. 67 - 76.
14. Жученко А. А. Адаптивный потенциал культурных растений. - Кишинев: Штиинца, 1988. - 767 с.
15. Уразалиев Р. А., Кохметова А. М. Анализ взаимодействия генотип-среда сортовых и гибридных популяций озимой мягкой пшеницы // С.-х. биология. - 1993. - № 1. - С. 33 - 42.
16. Драгавцев В. А. Алгоритмы эколого-генетической инвентаризации генофонда и методы конструирования сортов сельскохозяйственных растений по урожайности, устойчивости и качеству: Методические рекомендации (новые подходы). - С. - Петербург, 1984. - 187 с.
17. Драгавцев В. А. Эколого-генетическая модель организации количественных признаков растений // С.-х. биология. - 1995. - № 5. - С. 20 - 30.
18. Ebert D. E. Aspects der Ertragsforsehung bei Cetreide // Agroforum. - 1969. - № 1. - P. 7 - 9.
19. Орлюк А. П., Гончарова К. В. Адаптивный і продуктивний потенціали пшениці. - Херсон: Аилант. - 2002. - 276 с.
20. Литун П. П., Манзюк В. Т., Барсуков П. Н. Методы идентификации генов по продуктивности на ранних этапах селекции. // Проблемы отбора и оценки селекционно о материала. -К.: Наук. Думка. - 1980. - С. 16-28.
21. Гудзь Ю. В. Изменчивость структуры генотипической вариансы гибридов кукурузы под влиянием условий внешней среды. // Генетика. - 1990. - 26. - № 1 - С. 78-83.
22. Шкель Н. М. Разделение модификаций и селекционных по адаптивности генотипов в гетерогенных по адаптивности популяциях растений // Генетика. - 1990. - 26. - № 2. - С. 312 - 318.
23. Tai G.G. Genotype stability analysis and its application to potato regional trials // Crop. Sci. - 1971. - 11. - № 2. - P. 184-190.
24. Бачинский А. Г. Математический анализ неоднозначности матричных процессов как фактора адаптации // Меж. вузов. сб. исследований по генетике. - Л.: ЛГУ, 1981. - Вып.9. - С. 147 - 156.
25. Дубинин Н. П. Эволюция популяций и радиация. - М.: Атомиздат. - 1966. - 137 с.
26. Дубинин Н. П. Синтетическая теория эволюции // Экологическая генетика и эволюция. - Кишинев: Штиинца. - 1987. - С. 7 - 49.
27. Уильямс У. Генетические основы и селекция растений. - М.: Колос. - 1968. - 296 с.
28. Брюбейкер Д. Л. Сельскохозяйственная генетика. - М.: Колос. - 1966. - 223 с.
29. Бриггс Ф., Ноулз П. Научные основы селекции растений. - М.: Колос. - 1972. - 399 с.
30. Allard R.W. Principles of plant breeding. - London: John Wiley. - 1960. - 485 p.
31. Allard R.W., Harding J., Wehrhahn C. The estimation and use of selective values in predicting population change // Heredity. - 1966. - 21. - N4. - 547 p.
32. Жученко А. А. Проблемы адаптации в современном сельском хозяйстве // С.-х. биология. - 1993. - № 5. - С. 3 - 35.

33. *Островецьков В. О.* Сравнительная оценка экологической пластичности сортов сельскохозяйственных растений // Генетика количественных признаков сельскохозяйственных растений. - М.: Наука. - 1978. - С. 128-141.
34. *Инге-Вечтомов С. Г., Репневская М. В., Карлова Т. С.* О возможности общности механизмов мутаций и модификаций // Экологическая генетика и эволюция. - Кишинев: Штиинца. - 1987. - С. 103 - 116.
35. *Литун П. П.* Взаимодействие генотип-среда и изменчивость растений // Взаимодействие генотип-среда у растений и его роль в селекции. - Краснодар. - 1988. - С. 49 - 60.
36. *Пакудин В. З., Лопатина Л. М.* Методы оценки экологической пластичности сортов сельскохозяйственных растений // Проблемы отбора и оценки селекционного материала. - К.: Наук. думка. - 1980. - С. 93 - 100.
37. *Зыкин В. А., Мешков В.В., Сапега В. А.* Параметры экологической пластичности сельскохозяйственных растений, их расчет и анализ: Методические рекомендации. - Новосибирск. - 1984. - 24 с.
38. *Лопатина Л. М.* Планирование экологических испытаний и оценка пластичности сортов и гибридов с помощью регрессивных моделей // Вестн. с.-х. науки. - 1986. - № 5. - С. 71 - 75.
39. *Горбань Г. С., Шатохин В. І., Рябчун В. К.* Пластичність і стабільність урожайності ліній ярих гексаплоїдних тритікале // Селекція і насінництво. - К.: - Урожай. - 1992. - Вип. 73. - С. 44 - 46.
40. *Гудзь Ю. В., Лавриненко Ю. А.* Теория и практика адаптивной селекции кукурузы. - Херсон: Айлант. - 1997. - 168 с.
41. *Eberhart S. N., Russell W. A.* Stability parameters for comparing varieties // Crop. Sci. - 1966. - 6 - № 1. - P. 36-40.
42. *Орлюк А. П., Гончарова К. В.* Проблема поєднання високої продуктивності та екологічної стійкості сортів озимої пшениці // Фактори експериментальної еволюції організмів. - К.: Аграрна наука. - 2003. - С. 180 - 187.
43. *Жученко А. А.* Адаптивное растениеводство (эколого-географические основы). - Кишинев. - 1990. - 206 с.
44. *Корчинский А. А., Литун П. П.* Теоретические аспекты адаптивной интенсификации растениеводства // Вісн. Аграр. науки. - 1994. - № 3. - С. 69 - 73.
45. *Мартынов С. П.* Оценка экологической пластичности сортов сельскохозяйственных культур // С.-х. биология. - 1989. - № 3. - С. 124 - 128.
46. *Сапега В. А., Турсумникова Г. М.* Взаимодействие генотип - среда и параметры экологической пластичности сортов // Зерновые культуры. - 1999. - №1. - С.25 - 30.
47. *Богачиков В. И., Мирошниченко А. И.* Сроки посева как фактор выявления пластичности и стабильности сортов овса // Селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур в Западной Сибири. - Новосибирск. - 1983. - С. 161 - 121.
48. *Шмальгаузен И. И.* Фактор эволюции (теория стабилизирующего отбора). - М.; Л. - 1946. - 493 с.
49. *Георгиевский А. Б.* Проблемы преадаптации. - Л.: Наука. - 1974. - 147 с.
50. *Тихонович И. А., Проворов Н. А.* Пути использования адаптивного потенциала систем "растение-микроорганизм" для конструирования высокопродуктивных агрофитоценозов // С.-х. биология. - 1993. - № 5. - С. 36 - 46.
51. *Ермаков Е. И., Макарова Г. А.* Интенсификация селекции пшеницы на основе создания в регулируемой агроэкосистеме доноров ценных адаптивных признаков // С.-х. биология. - 1996. - № 1. - С. 3-12.
52. *Жученко А. А.* Экологическая генетика культурных растений. Теория и практика // Вестн. с.-х. науки. - 1995. - № 3. - С. 4 - 31.
53. *Слоним А. Д.* Среда и поведение. Нормирование адаптивного поведения. - Л.: Изд. ЛГУ. - 1976. - 456 с.
54. *Шмальгаузен И. И.* Пути и закономерности эволюционного процесса. - М.; Л. - 1939. - 248 с.
55. *Тахтаджан А. Л.* Система и филогения растений. - М.; Л.: Изд-во АН СССР. - 1966. - 679 с.
56. *Dambroth M., Bassam N. E.* Low input varieties: definition, ecological, requirements and selection // Science Assemble. Dep Nat. and Math.: Science Sebr. Acad. - 1982. - 13. - № 3. - P. 325 - 336.
57. *Орлюк А. П., Корчинський А. А.* Проблеми адаптивної селекції озимої пшениці. // Екологія та с.-х. виробництво. - К. - 1992. - С. 96 - 105.

58. Орлюк А. П., Корчинский А. А. Проблемы идентификации ценных генотипов в связи с аллоконкуренцией растений // Вісн. аграрн. науки. - 1994. - № 2. - С. 75 - 80.
59. Неттевич Э. Д., Мерсулов А. И., Максименко А. И. Повышение эффективности отбора яровой пшеницы в селекции на стабильность урожайности и качества зерна // Вестн. с.-х. науки. - 1985. - № 1. - С. 66 - 73.
60. Шелепов В. В. Селекция интенсивных сортов озимой пшеницы, особенности их семеноводства и сортовой агротехники в условиях Степи и Лесостепи Украины: Автореф. дис. д-ра с.-х. наук - Харьков. - 1992. - 42 с.
61. Шпунар Я. Перспективы развития производства зерновых культур в Чехословакии // Вестн. с.-х. науки. - 1992. - № 7 - 12. - С. 58 - 61.
62. Балджи Е. Н., Вожегова Р. А. Селекция озимой мягкой пшеницы в Степной зоне Крыма // Вісн. аграр. науки. - 1994. - № 8. - С. 68 - 70.
63. Унтила И. П., Постолатий А. А., Гаина Л. В. Создание высокопродуктивных пластичных сортов озимой пшеницы для условий Молдовы // Вестн. с.-х. науки. - 1992. - № 7 - 12. - С. 68 - 72.
64. Животков Л. О., Корчинський А. А. Формування сортової структури пшениці // Вісн. аграр. науки. - 2000. - № 7. - С. 41 - 43.
65. Іщенко В. І. Успадкування тривалості вегетаційного періоду гібридами пшениці озимої // Вісн. аграр. науки. - 2001. - № 4. - С. 82 - 83.
66. Кумаков В. А., Андреева А. Ф., Попова В. И. Физиологическая оценка морфологических типов растений яровой пшеницы различной продуктивности и засухоустойчивости на юго-востоке СССР // Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции. - 1978. - 63. - № 2. - С. 26 - 34.
67. Запрянов З. Изменчивость некоторых признаков продуктивности в связи с проведением отбора // Генетика и селекция. (София). - 1968. - Вып. 1. - № 2. - С. 34 - 39.
68. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. - М.: Наука. - 1983. - 279 с.
69. Соболев Н. А. Методика оценки экологической стабильности сортов и генотипов // Проблемы отбора и оценки селекционного материала. - К.: Наукова думка. - 1980. - С. 100 - 106.
70. Орлюк А. П., Корчинский А. А. Физиолого-генетическая модель сорта озимой пшеницы. - К.: Вища школа. - 1989. - 72 с.
71. Martin J. M., Alexander W. Z. Intergenotypic competition in biblends of spring wheat // Canad. J. Plant Sci. - 1986. - 66. - № 4. - P. 871 - 876.
72. Долотовский И. М. Генетико-селекционные аспекты взаимовлияния растений. - Уфа. - 1987. - 96 с.
73. Султанов И. М., Долотовский И. М. Влияние различных средовых и ценологических условий на проявление коэффициентов экологической корреляции у мягкой яровой пшеницы // Цитология и генетика. - 1994. - 28. - № 2. - С. 48 - 55.
74. Péro P., Péro P., Farkas B. Oszi burafasta henerekek vizsgalata a hasdusagi loszhaton // Novenytermeles. - 1987. - 26. - № 4. - P. 237 - 242.
75. Royo C., Romagosa J. Yield component stability in *Triticum aestivum* L. and *T. turgidum* L // Gezeal Res. Commun. - 1988. - 16. - № 1 - 2. - P. 77 - 83.
76. Молчан И. М. Системный подход в мутационной селекции на адаптивность // Селекция и семеноводство. - 1990. - № 2. - С. 12 - 14.
77. Левашева Г. М., Анпилогова Л. К. Устойчивость сортов озимой пшеницы к мучнистой росе // Селекция и семеноводство. - 1991. - № 3. - С. 15 - 16.
78. Долотовский И. М. Каталогизация ценологических эффектов селекционно-значимых генов // Селекция и семеноводство. - 1992. - № 2 - 3. - С. 6-8.
79. Любина С. В., Долотовский И. М. Генетическая детерминация конкурентоспособности растений в ценозе // Генетика. - 1993. - 29. - № 8. - С. 1237 - 1245.
80. Хангильдин В. В. Оценка гомеостатичности форм озимой пшеницы, различающихся по признакам морфоструктуры растений // Пути и методы повышения стабильности урожая озимой мягкой пшеницы в Степи УССР. - Одесса. - 1989. - С. 79 - 86.
81. Долотовский И. М., Долотовская Л. Э. Эффекты генетической конкуренции Lr - линии мягкой яровой пшеницы // Цитология и генетика. - 1991. - 25. - № 3. - С. 37 - 40.
82. Гужов Ю. Л., Комар О. А. Межгенотипическая конкурентоспособность растений

- яровой пшеницы и ее значение для селекции // Сообщ.3. Влияние конкуренции на корреляции между хозяйственно-важными количественными признаками // Генетика. - 1982 - 18 - № 3 - С 462-468
- 83 *Удачин Р А, Головченко А П* Методика оценки экологической пластичности сортов пшеницы Селекция и семеноводство - 1990 - № 5 - С 2 - 6.
- 84 *Малецкий С И* Групповые признаки у растений Популяционно-генетические аспекты продуктивности растений - Новосибирск Наука - 1982 - С 5-27.
- 85 *Крупнов В А, Лобачев Ю В* Гены низкорослости и их проявление у пшеницы / С.-х. биология - 1988. - № 2 - С. 118-124.
- 86 *Alan R E* Agronomic comparisons among wheat lines nearly isogenic for three reduced height genes / Crop Sci. - 1986 - 26. - № 4 - P. 707 - 710
- 87 *Alan R E* Agronomic comparisons between *Rht 1* and *Rht 2* semi dwarf genes in winter wheat // Crop. Sci. - 1989 - 29. - № 5 - P 1103 - 1108
88. *Понаиотов В Тодоров И, Ценов Н., Стоева И.* Основные результаты селекции пшеницы в Болгарии // Вестн. с.-х. науки. - 1992. - № 7 - 12. - С. 62 - 68.
89. *Кумаков В А.* Физиология формирования урожая яровой пшеницы и проблемы селекции // С.-х. биология - 1995. - № 5. - С 3 - 19.
90. *Хангильдин В. В., Комарова В. П., Бирюков С. В.* Динамика продукционного процесса у гибридов F₁ озимой пшеницы с разными генами короткостебельности // Цитология и генетика. - 1999. - 33. - № 4. - С.62-69.
91. *Акулиничев В. Ф.* О подборе пар для скрещивания // Селекция и семеноводство. - 1995. - № 3. - С. 21 - 22.
92. *Adams M. W., Grafius J. N.* Yield components compensation - alternative interpretation // Crop. Sci. - 1981. - № 11. - P. 33-35.
93. *Харпер Дж.* Некоторые подходы к изучению конкуренции у растений. - Механизмы биологической конкуренции. - М. - 1964. - С. 11-34.
94. *Хангильдин В. В.* Системный анализ теории селекции // Прикл. аспекты генетики, цитологии и биологии. - Одеса. - 1988. - С. 84 - 99.
95. *Хангильдин В. В., Власенко В. С.* Ценогенетические взаимоотношения сортов озимой мягкой пшеницы в бинарных смесях при разной популяционной плотности // С.-х. биология - 1992. - №1. - С.3-51.
- 96 *Симоненко В К., Хангильдин В. В., Власенко В. А.* Влияние генома сорта на адаптивные особенности аллоплазматических линий озимой пшеницы // Цитология и генетика - 2000. - 34. - № 3. - С. 21 - 27.
- 97 *Синская Е Н, Воробьева Ф. М.* Анализ популяции озимых пшениц в процессе переделки их в сорта с яровым образом жизни Проблема популяций у высших растений - Л 1961. - С. 106 - 140.
- 98 *Кондратенко Е Я, Драгавцев В. А.* Генетический анализ гомеостаза количественных признаков растений в популяциях и изменении условий роста // Генетика. - 1990 - 6 № 4 - С 679 - 685.
- 99 *Сибилкин Н П* Значение относительной численности и разнообразия признака // Генетика зерновых и зернобобовых культур. - Орел - 1972. - С.102 - 105.
- 100 *Бороевич С* Принципы и методы селекции растений - М. Колос. - 1984. - 344 с.
101. *Рахман Масадур Мд., Драгавцев В. А.* Новые подходы к прогнозированию гетерозиса у растений // С.-х. биология. - 1990. - № 1. - С. 3 - 12.
102. *Филипченко Ю. А* Генетика мягких пшениц. - М.: Наука. - 1979.-311 с.
103. *Гинзбург Э. Х.* Описание наследования количественных признаков. - Новосибирск: Наука. - 1984. - 249 с.
104. *Рокицкий П. Ф.* Введение в статистическую генетику. - Минск: Высшая школа, 1978. - 448 с.
105. *Серебровский А. С.* Генетический анализ. - М.: Наука. - 1970. - 342 с.
106. *Седловский А. И., Мартынов С. П., Мамонов П. К.* Генетико-статистические подходы к теории селекции самоопыляющихся культур. - Алма-Ата: Наука. - 1982. - 198 с.
107. *Мазер К., Джинкс Д.* Биометрическая генетика. - М.: Мир. - 1985.- 463 с.
108. *Мережко А. Ф.* Система генетического изучения исходного материала растений для селекции. - Л: Наука. - 1984. - 69 с.
109. *Пухальский В. А.* К разработке системного подхода в определении генов, детерминирующих количественные признаки // С.-х. биология. - 1992. - № 1. - С. 17 - 22.

110. Орлюк А. П., Гончарова К. В. Проблема поєднання високої продуктивності та екологічної стійкості сортів озимої пшениці // Фактори експериментальної еволюції організмів. - К. - Аграрна наука. - 2003 - С. 180 -187.
111. Гинзбург Э. Х., Никоро З. С. Разложение дисперсии и проблемы селекции. - Новосибирск: Наука. - 1982.- 162 с.
112. Жученко А. А. Генетика томатов. - Кишинев: Штиинца. - 1973. - 633 с.
113. Шмальгаузен И. И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии: Изб. тр. - М.: Наука. - 1982. - 383 с.
114. Цильке Р. А., Герасименко И. И. Генетический контроль ритма роста растений мягкой яровой пшеницы в условиях засухи // Генетика. - 1987. - 23. - № 2. - С. 325 - 335.
115. Базалий В. В. Обоснование эколого-генетических основ адаптивной селекции // Таврій. наук. вісн.: Зб. наук. пр. - Херсон: Айлант, 1998. - Вып 7. - С. 40 - 47.
116. Кирпичников В. С. Модификационная изменчивость и ее роль в эволюции // Развитие эволюционной теории в СССР. - Л.: Наука. - 1983. - С. 155 - 160.
117. Исмаилов М. И., Драгавцев В. А., Бабаджак В. А. Экологические подходы к изучению количественных признаков тритикале // Генетика. - 1989. - 25. - № 4. - С. 683 - 690.

*Представлено А. А. Корчинським
Надійшла 01.11.2004 р.*

**ОБОСНОВАНИЕ ЭКОЛОГО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ
ОСНОВ АДАПТИВНОЙ СЕЛЕКЦИИ ОЗИМОЙ
ПШЕНИЦЫ**

В. В. Базалий

Херсонский государственный аграрный университет
Украина, 73006, Херсон,
ул. Розы Люксембург, 23
тел. (0552) 510949;
e-mail: office@ksau.Kherson,ua

Рассмотрены и проанализированы многочисленные исследования ученых в области проблем адаптивной селекции сельскохозяйственных культур.

В целом констатируется, что адаптивные признаки любого организма и их проявление в растениеводческом ценозе контролируется не отдельными генами, а генотипом в целом. Спектр и количество аллелей у сортов и линий с повышенной гомеостатичностью более широкий, чем у сортов недостаточно адаптивных к неблагоприятным условиям окружающей среды. Поднят вопрос определения трактовки терминологии показателей, которые имеют прямое отношение к реализации программ адаптивной селекции. При использовании той или другой трактовки терминов главное - определить для них биологическую сущность, чтобы совпадало их биологическое толкование. Определение параметров пластичности, стабильности и гомеостатичности количественных признаков при разных условиях выращивания генотипов дает возможность разработать комплексные мероприятия оценки селекционно-генетических процессов у гибридных популяций растений озимой пшеницы.

Ключевые слова: озимая пшеница, адаптивная селекция, количественные признаки.

**SUBSTANTIATIONS OF ECOLOGY-GENETIC
BASES OF ADAPTIVE SELECTION WINTER
WHEATS**

V. V. Bazaliy

The Kherson state agrarian university
Ukraine, 73006, Kherson, street of a Rose
Luxembourg, 23
Tel: (0552) 510949;
e-mail: office@ksau.Kherson,ua

Is considered and is analyzed numerous researches scientific in the field of problems of adaptive selection of agricultural cultures.

As a whole is ascertained, that adaptive attributes anyone organism and their display in ceno-sis is supervised not by separate genes, and genotype as a whole. A spectrum and quantity genes the grades and lines with raised increased homeostationy by the characteristic wider, than at grades have not enough adaptive to adverse conditions of an environment. The question of definition of treatment of a terminology of parameters is lifted which have the direct attitude relation to realization of the programs of

adaptive selection. At use of this or that treatment of the term main - to define (determine) for them biological essence, that their biological interpretation coincided. The definition of parameters of plasticity, stability and homeostations of quantitative attributes under differ-

ent conditions of cultivation of genotypes enables to develop complex measures of an estimation of selection-genetic processes at hybrid populations of plants of a winter wheat
Key words: winter wheat, adaptive selection, quantitative tags.

УДК 636.082.51

ПРИКЛАДНІ АСПЕКТИ ГЕНЕТИКИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ В ТВАРИННИЦТВІ

В. П. БУРКАТ, В. В. ДЗІЦЮК, С. І. КОВТУН

Інститут розведення і генетики тварин УААН,
08321, Київська обл., Бориспільський р-н, с. Чубинське, вул. Погребняка, 1

Обговорюється ефективність та прикладні аспекти використання сучасних генетичних та біотехнологічних методів у тваринництві.

Ключеві слова: геном, цитогенетична експертиза, цитогенетика, ДНК-технології, полімеразна ланцюгова реакція, ембріон, партеногенез, клонування, епідидимальні сперматозоїди

Якісно новою особливістю сучасного тваринництва є корінна реконструкція існуючих і створення нових порід худоби з високим генетичним потенціалом продуктивності. Успішна програма розвитку тваринництва базується на використанні результатів досліджень в різних областях науки.

Традиційна генетика, яка є основою селекційного вчення, за останні 10-12 років зробила величезний прорив вперед у своєму розвитку. Її досягнення створили реальні перспективи для поглибленого дослідження племінного матеріалу, визначення конкретних механізмів генетичної мінливості з метою спрямованого використання їх для аналізу і оцінки генотипів в селекційних програмах поліпшення існуючих і створення нових порід і типів сільськогосподарських тварин [3].

Введення до Закону України "Про племінну справу у тваринництві" "Положення про порядок проведення генетичної експертизи походження і аномалій племінних тварин" стало рушійною силою розвитку організаційних і методологічних принципів проведення генетичної експертизи в тваринництві. Згідно даного нормативного документу увесь племінний матеріал, і обов'язково той, що виходить на аукціон племінних тварин, має проходити сертифікацію окрім показників екстер'єру і продуктивності за достовірністю походження, цитогенетичними показниками, поліморфними генами, які детермінують господарсько ці-

© В. П. БУРКАТ, В. В. ДЗІЦЮК, С. І. КОВТУН, 2005

нні ознаки, та діагностику спадкових захворювань. Нині сучасна біотехнологічна наука (від грець. *bios* - життя, *techne* - майстерність і *logos* - учення) стрімко йде на передньому плані науково-технічного прогресу. Як наука біотехнологія є молодою, розвиток її стрімкий. Біотехнологія, використовуючи досягнення генетики, клітинної біології, експериментальної ембріології, біохімії, молекулярної біології, мікробіології, біофізики і кріобіології та сучасних технологій, сформувалася на основі синтезу досягнень біологічних наук. Прогресивний розвиток біотехнології розмноження та репродукції генетично-цінних типів займає особливе значення у відтворенні і селекції сільськогосподарських тварин. Необхідне широке використання досягнень сучасної біотехнології для практичної розробки методів і схем інтенсивної селекції в нашій країні з метою вискоєфективного впровадження нового напрямку біотехнологічної селекції, формування якого розпочалося в Україні в кінці минулого століття [2]. Традиційні, нові та новітні біотехнологічні напрямки у тваринництві спрямовані, перш за все, на одержання особин з бажаним фенотипом при використанні нетрадиційних методів. На основі поглибленого вивчення біологічних процесів зростає ефективність розвитку цих методів.

Ще в 90-х роках минулого століття в Україні розроблена і частково впроваджена цілісна система імуногенетичного контролю селекційних процесів, що включає в себе комплекс методів, основними з яких є: оцінка генетичної структури порід, типів, стад, а також генотипів окремих особин за поліморфними системами груп крові; імуногенетичний контроль лінійного

розведення; генетична експертиза походження тварин та відновлення в ряді випадків істинного батьківства; об'єктивна оцінка генотипу плідників з використанням генетичних маркерів (Інститут розведення і генетики тварин УААН). Розроблені імуногенетичні методи використовуються в селекційній практиці для контролю за мікроеволюційними процесами в популяціях сільськогосподарських тварин, цілеспрямованого формування генетичної структури стад, прискореного створення нових порід, типів і ліній тварин. Основним напрямком досліджень в цій галузі є розробка методів використання закономірностей генетичного поліморфізму для ранньої діагностики стресостійкості, резистентності і рівня розвитку основних цінних господарських ознак тварин.

Перспективним для селекціонерів є розроблений в Інституті тваринництва УААН метод цитогенетичного тестування на основі ступеню мутабельності геному тварин потенційних родоначальників ліній і родин, що дає змогу в короткий строк виявити особин перспективних як покращувачів відтворних і адаптаційних якостей [6].

Поряд з розробкою таких шляхів прискорення генетичного процесу, як розробка нових і удосконалення існуючих способів оцінки генотипу племінних тварин, стрімко розвиваються нові напрямки вивчення геному тварин. Основу їх складають молекулярно-генетичні методи досліджень, які базуються на аналізі спадкової інформації безпосередньо в ДНК. Селекція за допомогою молекулярно-генетичних маркерів ґрунтується на їх здатності отримувати інформацію про поліморфізм генів і виявляти окремі гени і генні асоціації, що несуть бажаний

комплекс ознак. Особливістю сучасного підходу в дослідженні сільськогосподарських тварин є формування методології досліджень, які базуються на генетичному аналізі від нуклеотидної послідовності в молекулі ДНК до ознаки, а не навпаки. На основі такої інформації можна вести цілеспрямовану селекцію.

Звідси - новий рівень цитогенетичних досліджень, нові можливості встановлення достовірності походження не через групи крові, як це було прийнято до недавнього часу, а шляхом аналізу нуклеотидних послідовностей.

Рівень цитогенетичних досліджень піднявся від традиційного рутинного обстеження каріотипу тварин до прицільного пошуку хромосомних аномалій, використовуючи як один з методів метод флуорисцентної *in situ* гібридизації (FISH). Успішно нині ідентифікують хромосоми за допомогою ДНК-маркерів методом painting chromosomes. Особливо актуальним це є в світлі того, що часто хромосомні аномалії пов'язані з порушеннями відтворних якостей тварин і їх хворобами [7]. Трудністю вияву хромосомних перебудов - аберацій при рутинному методі аналізу каріотипу є неможливість їх ідентифікації в межах однієї хромосоми, оскільки подвоєння чи випадіння ділянок хромосом при рутинному забарвленні не виявляється і досить складно виявити при використанні диференційного забарвлення. Це стає можливим при використанні хромосом-специфічних проб, які дають змогу провести точний аналіз реципрокних транслокацій. Для встановлення локалізації генів в певних хромосомних бендах, що відповідають за господарсько-корисні ознаки вико-

ристовуються цитогенетичні карти високої роздільної здатності.

Цитогенетичні підходи виявляються значимими і надзвичайно корисними як в селекції, так і в біотехнології, про роботі з дорослими особинами, так і при маніпуляціях зі статевими клітинами, зиготами і ембріонами. Ці методи дають змогу визначити локалізацію молекулярно-біологічних процесів і пов'язати структурну організацію хромосом з елементами функціонування геному і є джерелом збагачення знань селекціонерів про генетичні процеси.

Доступними є нині і ДНК-методи, які в аграрних технологіях виконують цілий спектр завдань.

Часто спадкова хвороба чи аномалія спричинюється зміною(заміною) одного нуклеотиду в нуклеотидній послідовності ДНК. Ясно, що виявити за фенотипом тварину-носія такої мутації з рецесивним типом успадкування неможливо і мутація приховано не лише зберігається, а і поширюється в популяції, приносячи відчутну шкоду тваринництву. Вирішити це питання можна лише одним способом - ДНК-діагностика тварин і далі - вибракування прихованих носіїв небажаного алелю.

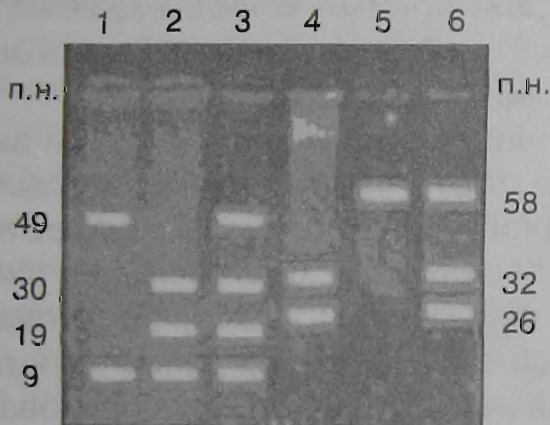
Найвагомішими з них є пошук маркерів господарсько-корисних ознак і вияв на ранніх стадіях онтогенетичного розвитку спадковообумовлених захворювань.

Особливого значення ця проблема набуває у випадках завезення сперми і плідників з інших регіонів чи країн і їх наступного використання при створенні нових порід і типів худоби.

Накопичені в світі дані про наявність широкого спектра **генетично детермінованих захворювань сві-**

дчать про їх розповсюдженість у різних порід і видів тварин, а також про їх негативний вплив на життєдіяльність і продуктивність. Надійним методом вияву їх на ранніх стадіях онтогенезу тварин є аналіз нуклеотидної послідовності їх ДНК шляхом використання поліме-разної ланцюгової реакції з наступним рестрикційним аналізом.

Так, відпрацьована методика виявлення у великої рогатої худоби **захворювання BLAD** - дефіциту адгезивності лейкоцитів. Вперше це захворювання виявили у телят голштинської породи великої рогатої худоби (рис. 1).



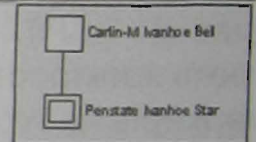
1,2,3 - продукт рестрикції ендонуклеазою Hae III;
4,5,6 - продукт рестрикції ендонуклеазою Taq I;
1,4 - нормальний генотип;
2,5 - гомозигота BLAD;
3,6 - гетерозиготні носії BLAD.

Рисунок 1. Ідентифікація мутації BLAD

Ще одним генетично детермінованим захворюванням є хвороба **рецесивного гена DUMPS**. Вона зумовлена порушенням обміну речовин і проявляється дефіцитом ферменту уридинмонофосфатсинтетази. Фермент має зв'язок з із відтворною функцією тварин і впливає на виживання потомства. Якщо обоє батьків є носіями рецесивного гена DUMPS, то біля 20% ембріонів гине на ранній стадії розвитку (до 40 днів). Методом ПЛР з наступним рестрикційним аналізом продуктів ампліфікації можна ідентифікувати дві точкові мутації гена *arg1*



Прогресуюча дегенеративна мієлоенцефалопатія (Bovine Progressive Degenerative Myeloencephalopathy)



Комплексна хребетна повторність (Complex Vertebral Malformation, CVM)

Рисунок 2. Спадкові захворювання великої рогатої худоби, спричинені рецесивними мутантними генами

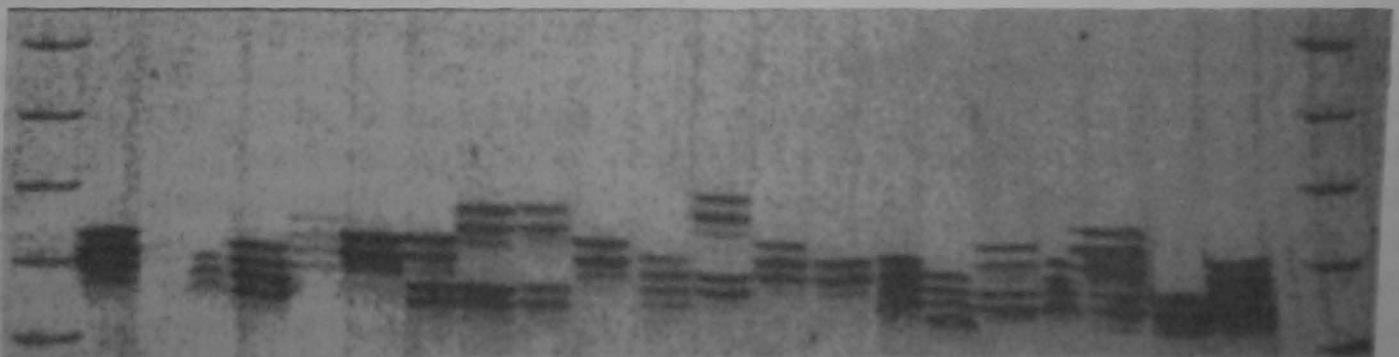


Рисунок 3. Геномна дактилоскопія великої рогатої худоби з використанням мікросателітних маркерів

ніносукцинатсинтетази у великої рогатої худоби, які зумовлюють захворювання **цитрулінемією** (порушення синтезу сечовини). Методом ПЛР виявляється також і **прогресуюча дегенеративна мієлоенцефалопатія (Синдром Уіверса молочної худоби, BPDME)** - захворювання нервової системи, причиною якого є аутосомна рецесивна мутація, картована на 4-й хромосомі. Воно вперше було описане в США у швіцької худоби в 1973 році. Телята-гомозиготні носії народжуються нормально розвинутими. Клінічні прояви захворювання починаються у віці 6-8 місяців: ускладнення при вставанні, порушення координації рухів, ненормальна хода, похитування. Повний параліч задніх кінцівок настає у віці 12-18 місяців. Захворювання зазвичай призводить до смерті тварини, у протилежному випадку рекомендується евтаназія (рис.2).

Комплексна хребетна потворність (Complex Vertebral Malformation, CVM) - летальна рецесивна мутація, зустрічається у голштинської худоби. Вперше виявлена в Данії у 2000 році у потомстві голштинського бугая KOL Nixon. Головний розповсюджувач мутації - бугай Carlin-Ivanhoe Bell; пізніше було встановлено, що його батько Penstate Ivanhoe Star також був носієм мутації.

Фенотиповий прояв у гомозиготі - скорочена, майже відсутня шия, скорочений хребет, сколіоз, пропорційна карликовість. У більшості випадків спричиняє абортівання плода до 260-го дня тільності (рис.2).

В окремих випадках вияв мутацій сприяє більш швидкому розвитку бажаних спадкових змін тварин в популяції, наприклад, високі продуктивні якості м'ясної худоби. Так, вияв **мута-**

ції в гені міостатину пояснив причину появи тварин з м'язовою гіпертрофією - так званий ефект подвійної мускулатури, що зумовлена делецією розміром 11 пар нуклеотидів у екзоні III. Мутація порушує рамку зчитування гена, а отже синтез білку міостатину.

Для нетрадиційного збільшення продуктивності сільськогосподарських тварин розроблено метод **використання гена соматотропного гормону** [1]. Для великої рогатої худоби відомо 4 алельні варіанти соматотропіну, які існують завдяки нуклеотидним замінам в різних районах гена. Одна з нуклеотидних замінів призводить до появи алельних варіантів А і В. За точковими мутаціями у гені соматотропного гормону було простежено зв'язок цього маркера з молочною продуктивністю. Гомозиготні за одним з алельних варіантів корови мають більш високу молочну продуктивність.

Прикладом використання молекулярно-генетичного маркера є технологія тестування і визначення генотипів великої рогатої худоби за локусом гена **капа-казеїну**, що дає змогу ідентифікувати генотип капа-казеїну в зразках крові тварин будь-якої статі й віку, у спермі плідників, в ембріонах, що обумовлює ефективність цього тесту при формуванні стад, продукція яких найбільш придатна для виробництва високоякісних твердих сирів [5].

Одним з прикладів ідентифікації маркерів, що пов'язані з локусами кількісних ознак, є **ген високої плодючості у овець**. Дією цього гена є підвищення кількості овульованих яйцеклітин і чисельний приплід у овець порід кембридж, фінської і романівської - як гомозигот так і гетерозигот відносно даного гена.

Активно розробляється в Україні напрям **геномної "дактилоскопії"**, (рис. 3) який реалізується через дослідження у різних сільськогосподарських видів поліморфізму структурних генів, сателітної ДНК, мітохондріальної ДНК, анонімних послідовностей ДНК і дає можливість отримати унікальну генетичну картину будь-якого індивідуума [25, 26].

Міні- і мікросателіти з успіхом використовуються як молекулярно-генетичні маркери, в тому числі і для локалізації послідовностей, що детермінують господарсько цінні ознаки сільськогосподарських тварин і для контролю походження тварин.

Різні варіанти цього методу використовуються для паспортизації порід тварин, оцінки генетичної варіабельності і спорідненості всередині виду, а також для прогнозування можливого гетерозисного ефекту при схрещуванні.

Використання типування тварин за даним ДНК-методом з успіхом може замінити **такі класичні маркери як групи крові**. Цей варіант ПЛР-аналізу задовольняє всі вимоги, що висуваються до генетичних маркерів - від менделюючого характеру успадкування і високого рівня гетерозиготності і до можливості використання мінімальної кількості біологічного матеріалу. Все це дає змогу проводити швидко і точно ідентифікацію особини (геномна дактилоскопія). Мікросателітні повтори в перспективі можуть бути використані як один з інструментів для диференціації і ідентифікації генотипів ліній і порід тварин і визначення їх генетичних взаємовідносин в генетико-селекційних дослідженнях і в практичному тваринництві. Це дозволяє вести селекцію, використовуючи і цей

клас генетичних маркерів, що значно прискорює селекційний прогрес.

Питання спермопродуктивності бугаїв і можливості її раннього прогнозування є особливо актуальним. Синхронне проходження сперматогенезу і формування повноцінних сперміїв може бути одним з важливих критеріїв, що характеризують спадкові і відтворні якості плідника. Нами розробляється метод оцінки сперматогенезу плідників на основі аналізу мейотичних хромосом. Цитогенетичний аналіз стадій сперматогенезу шляхом аналізу еякульованих мейоцитів різного порядку дасть змогу встановити причини низької якості сперми, азооспермії, олігоспермії та інших причин вибракування бугаїв [4].

Визначення статі ембріонів великої рогатої худоби як додаток до запліднення і культивування ембріонів *in vitro* набуває останнім часом великого значення, оскільки це дає змогу накопичувати і пересаджувати ембріони бажаної статі. Передімплантаційна діагностика статі забезпечує можливість пересадки кількох ембріонів одному реципієнту, виключаючи при цьому ймовірність народження гетеросексуальних двійнят, а відповідно і фримартинізм у жіночих особин. Один із способів діагностики статі за допомогою ПЛР оснований на ампліфікації Y-специфічних послідовностей-зондів чи гомологічних однокопійних генів. Іншим способом - FISH-методом і візуалізацією його результат в під мікроскопом проводиться визначення X і Y-хромосом в сперматозоїдах бугаїв.

Біотехнологам, що володіють збагаченими досягненнями генетики знаннями закономірностей ембріонального розвитку ссавців, під силу створювати взаємозв'язані з прик-

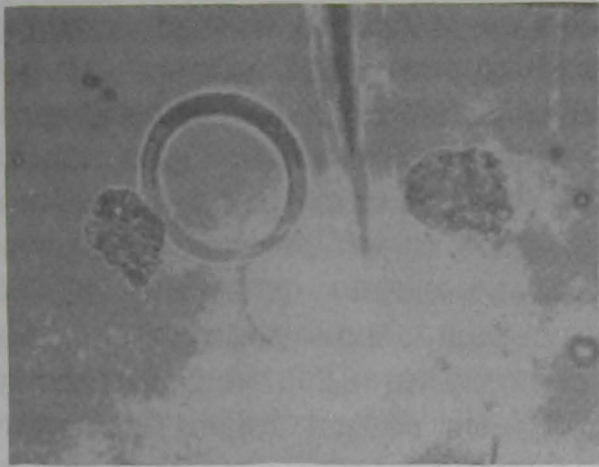


Рисунок 4. Мікрохірургічний поділ зародка на половинки

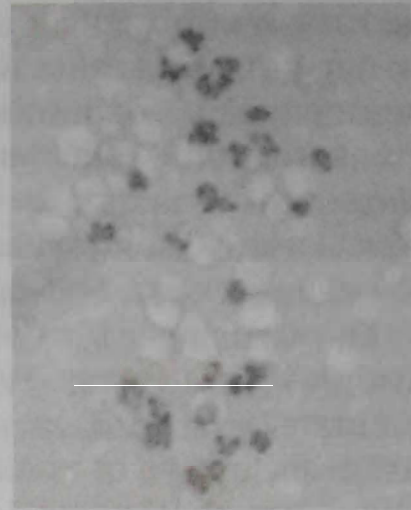


Рисунок 5. Сухоповітряний препарат ооциту корови на стадії метафази I мейозу, об. 90х, ок. 10х. Диференційне С-забарвлення хромосом, добре помітні гетерохроматинові ділянки

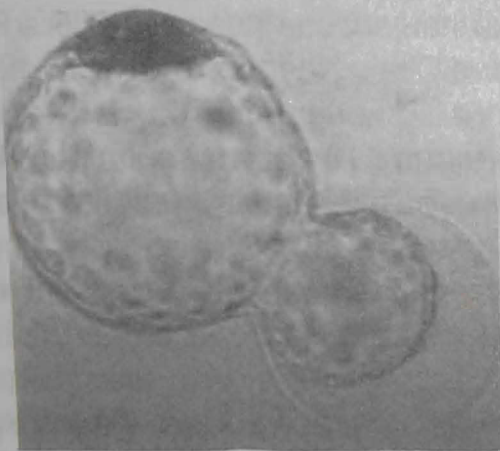


Рисунок 6. Бластоциста великої рогатої худоби, що розширюється, одержана *in vitro*, об.10х, ок.10х



Рисунок 7. Рання морула свиней, отримана *in vitro*, об.10х, ок.10х



Рисунок 8. Амейотичні партеногеноми свиней, об.10х, ок.10х

ладними галузями тваринництва системи, які будуть ґрунтуватись на функціонуванні природних процесів, метаболічні властивості яких підкорятимуться інтересам людства.

Українськими біотехнологами освоєно і впроваджується в практику численні біотехнологічні методи в тваринництві, які сплановано використовують останні розробки. Так класичний метод нехірургічної трансплантації ембріонів великої рогатої худоби доповнено використанням клонування методом **мікрохірургічного поділу зародків** на половинки для спрямованого отримання монозиготних близнят [16, 27]. В Україні вперше отримано монозиготних близнят великої рогатої худоби з використанням зародків, отриманих *in vivo* у 1987 році співробітниками Інституту тваринництва УААН (м. Харків) під керівництвом академіка УААН Ф. І. Осташка [24]. В подальших дослідках після трансплантації половинок було одержано ще декілька пар монозиготних близнят. Широкомасштабні дослідки з вивчення ефективності використання половинок зародків великої рогатої худоби, одержаних *in vivo*, проведені в Інституті розведення і генетики тварин УААН під керівництвом доктора біологічних наук В. Є. Кузнецова [9]. Зокрема, в наших дослідженнях показано, що мікрохірургічний поділ свіжотриманих морул-бластоцист великої рогатої худоби на половинки (рис.4) дозволяє не тільки отримати монозиготних близнят, але і порівняно з пересадкою цілих ембріонів більше, ніж на 60% збільшити кількість телят від донорів ембріонів внаслідок того, що приживлення половинки вірогідно відрізнялось від приживлення цілого ембріона [10, 14]. Нами одержано по-

ловинки ембріонів великої рогатої худоби та вивчено їх здатність до розвитку шляхом культивування *in vitro* в стандартних умовах. Серед половинок ембріонів, одержаних з допомогою двоетапного ділення, було значно більше оцінених як відмінні (100%), ніж серед половинок ембріонів, одержаних за стандартною методикою (50%). Всі напівембріони були здатні до трансплантації.

Впроваджується в практику трансплантації метод **зжиттєвого визначення статі зародків** з використанням диференційного С-забарвлення мітотичних хромосом окремих бластомерів та ПЛР-аналізу (ПЛР - полімеразна ланцюгова реакція, PCR - Polymerase Chain Reaction). Такі дослідження інтенсивно ведуться в Інституті розведення і генетики тварин УААН. Нами отримані диференційно забарвлені хромосоми ооцитів корів на різних стадіях мейозу та мітотичні хромосоми зародків великої рогатої худоби, одержаних *in vitro*, виявлена локалізація центромерного гетерохроматину (рис.5). Показана можливість застосування цього методу для визначення статі зародків великої рогатої худоби. Виконано поділ 5 зародків великої рогатої худоби на нерівні половинки, меншу з яких використано для культивування *in vitro* та приготування цитогенетичних препаратів і диференційного С-забарвлення. Більша половинка кожного зародка була трансплантована реципієнтам. Зареєстрована тільність на рівні 60,0%, що призвело до народження 1 теляти (3.08.2005). Робота виконувалась в племзаводі "Більшовик" (Донецька обл.). Аналіз поліморфізму ДНК з відкриттям методу аналізу електрофоретичних спектрів продуктів ампліфіко-

ваних фрагментів ДНК за допомогою ПЛР має великі перспективи. Метод ампліфікації фрагментів ДНК *in vitro*, завдяки якому можна вибірково розмножити аналізовану ділянку ДНК до одержання достатньої для аналізу кількості копій, був розроблений у 1984 р. Кері Б. Мюлліс [22]. У тваринництві це дає можливість картувати геном, уточнювати походження племінних тварин, діагностувати генетичні захворювання (наприклад виявляти у худоби носіїв аутосомної рецесивної точкової мутації BLAD (імунодефіциту, яка викликає дефіцит адгезивності лейкоцитів у великої рогатої худоби), виявляти інфікованість тварин різними патогенами (наприклад тестування великої рогатої худоби на інфікованість вірусом лейкозу), здійснювати селекцію за допомогою ДНК-маркерів (наприклад відбір корів для виготовлення високоякісних сирів на основі ідентифікації алелів капа-казеїну, виявлення особин з рецесивною точковою мутацією у позиції ріанодинрецепторного гена у свиней, яка викликає проявлення стрес-синдрому), створювати генетичну паспортизацію порід сільськогосподарських тварин, оцінити геном тварин при схрещуванні та чистопородному розведенні, визначенню статі зародків та ін. [8, 32, 33]. У системі Української академії аграрних наук метод полімеразної ланцюгової реакції широко застосовується для аналізу поліморфізму ДНК у Південному біотехнологічному центрі (м. Одеса) під керівництвом академіка УААН Ю. М. Сиволапа, в Інституті експериментальної і клінічної ветеринарної медицини (м. Харків) під керівництвом академіка УААН П. П. Фукс, в Інституті свинарства (м. Полтава) під керівництвом кандидата біологічних

наук В. М. Балацького та в деяких інших установах.

Повертаючись до застосування в господарствах України трансплантації ембріонів слід відмітити, що в науково-дослідних закладах УААН досить добре вивчені і удосконалені методи синхронізації, суперовуляції корів-донорів, вимивання і морфологічної оцінки, пересадки та кріоконсервування ембріонів. Так, колишнім Львівським біотехнологічним центром під керівництвом доктора сільськогосподарських наук С. Г. Шаловила удосконалена технологія трансплантації і кріоконсервації ембріонів, яка забезпечує 60% приживлюваності свіжоодрержаних ембріонів та 45-50% деконсервованих, відпрацьовано метод "прямої пересадки", яка запроваджена в 15 областях України [29]. Суттєвий внесок з питань трансплантації ембріонів великої рогатої худоби внесли академік Ф. І. Осташко, доктор біологічних наук О. Д. Бугров, С. Ю. Шеховцов (Інститут тваринництва УААН, м. Харків) та ін [24]. Так за даними С. Ю. Шеховцова (1997 р.) у середньому на одне вилучення з рогів матки донора було одержано 14,2 ембріони, в тому числі морфологічно нормальних - 9,8, встановлено генетичний і фізіологічний вплив донорів і реципієнтів на прирости телят-ембріотрансплантантів [30]. Важливий вклад у розвиток трансплантації в Україні здійснили кандидати біологічних наук В. В. Мадисон і Л. В. Мадисон (ДСП "Головний селекційний центр України", м. Переяслав-Хмельницький). Зокрема під їх керівництвом співробітниками лабораторії трансплантації ембріонів виявлені оптимальні дози і схеми введення ФСГ, удосконалені методи стимуляції статевої циклічності у донорів м'ясних

порід, опанований метод "прямої пересадки" зародків та ін. За 1993 - 2003 у 19 областях України ними було пересаджено 5109 ембріони молочних і м'ясних порід великої рогатої худоби закордонної селекції. Рівень тільності тварин складав 49,3% [20].

В Україні вперше групою наукових співробітників з Інституту свинарства УААН (м. Полтава) доктором біологічних наук Н. А. Мартиненко, академіком УААН В. Ф. Коваленком, кандидатом біологічних наук П. В. Денисюком і О. Г. Чирковим одержано порося методом нехірургічної трансплантації ембріонів у ріг матки свиноматки, вагітною власними зародками [21].

Іншим напрямком використання досягнень сучасних біотехнологічних розробок в практику тваринництва є доповнення методів збереження генофонду генетично цінних та зникаючих порід. Це, перш за все, **кріоконсервування отриманих із придатка сім'яника сперматозоїдів** (епідидимальні) бугаїв та кнурів [11, 12], а також отримання біологічно повноцінних **зародків сільськогосподарських тварин поза організмом** (рис. 6, 7) та їх надшвидке заморожування (вітрифікація) [15, 17, 31]. Нами запропоновано метод отримання, короткострокового зберігання та кріоконсервування (визначено найбільш ефективний розбавник) сперматозоїдів, отриманих із хвостової частини епідидиміса бугаїв та кнурів. З використанням заморожено-розморожених епідидимальних сперматозоїдів бугаїв та кнурів отримані стабільно високі результати по заплідненню поза організмом дозрілих *in vitro* ооцитів корів та свиней (67,5% та 60,6% відповідно) та одержанню зародків *in vitro* на доімплантаційних стадіях розвитку (62,9% та 52,8% відпо-

відно). Цей метод можна використовувати для прижиттєвого прогнозування запліднювальної здатності плідників при використанні епідидимальних сперматозоїдів (біопсія гамет із сім'яника тварин); для додаткового збереження цінного генетичного матеріалу при потребі вибракування плідників [12, 19]. З метою перевірки можливості використання таких кріоконсервованих гамет бугаїв та кнурів нами було проведено в 2004 році штучне осіменіння двох корів та трьох свиноматок, що призвело до народження одного теляти та опоросу однієї свиноматки 7 поросятами (господарство "Шевченківське"). Біотехнологами Інституту розведення і генетики тварин УААН завершується розробка надійного способу об'єктивної оцінки запліднювальної здатності сперматозоїдів бугаїв з допомогою осіменіння поза організмом дозрілих *in vitro* ооцитів корів. Цей метод досить ефективний, так як існуючі рутинні методи візуальної оцінки сперматозоїдів не забезпечують об'єктивної оцінки їх запліднювальної здатності. Запропонований метод дає можливість використовувати велику партію ооцитів, які дозрівали та запліднювались у однакових умовах, нівелювати вплив різних умов *in vivo* (у яєчниках, яйцепроводах та матці) на дозрівання ооцитів та розвиток зародків; проводити перевірки окремої партії замороженої сперми (у тому числі такої, яка зберігається протягом досить тривалого часу) та ін.

Більш фундаментальну сторону нині в Україні мають такі біотехнологічні методи як отримання трансгенних зародків сільськогосподарських тварин, ембріональне та соматичне клонування. Використання методу одержання трансгенного потомства у сільсько-

господарських тварин підвищить ефективність тваринництва завдяки направленому отриманню потомства стійкого до хвороб або з кращою м'ясною чи молочною продуктивністю. З метою розробки і використання на практиці вищезгаданого методу нами встановлено, що центрифугування не впливає на дозрівання ооцитів свиней (76,2%), а мікроін'єкція у зародковий міхурець дещо знижує здатність до розвитку ооцитів (32,0 %) внаслідок негативного впливу на структури клітини і тому необхідно удосконалювати методику мікроманіпуляцій. Незважаючи на складність проблеми, її вирішення сприятиме кардинальному підвищенню ефективності одержання трансгенних тварин.

Прискорений розвиток передових методів клітинної інженерії (а саме отримання біологічно повноцінних доїмплантаційних зародків великої рогатої худоби поза організмом) підвищив ефективність отримання реконструйованих зародків методом пересадки ядер (nuclear transfer - NT) [13]. Вивчення динаміки дозрівання ооцитів корів *in vitro* до стадії метафази II мейозу за наявності морфологічно нормального I полярного тільця, отримання на високому рівні запліднених поза організмом яйцеклітин корів (74,6%), дроблення зигот (68,6%) та розвиток зародків великої рогатої худоби *in vitro* до стадії морули-бластоцисти (22,6%) з використанням епідидимальних сперматозоїдів бугаїв, а також розроблений нами метод високоєфективної активації ооцитів корів до партеногенетичного розвитку [18], що є суттєвою частиною технології пересадки ядер у ссавців, дозволило отримати NT-бластоцисти великої рогатої худоби на рівні 27,3%.

Необхідно всесторонньо досліджувати наслідки клонування в тваринництві. Часто клоновані тварини або їх плаценти виростають до надзвичайно великих розмірів. Соматичне клонування включає пересадку ядра клітини дорослого організму у енуклеюваний ооцит. Це створює загрозу життю самки, яка виношує цей зародок. В 1999 році було досліджено 12 тільних клонованими зародками корів. 4 померли від ускладнень. Часто проявляються захворювання серця і легень, порушення розвитку нирок і кишечника, послаблена імунна система, викривлені кінцівки, ожиріння після народження. Інколи дефекти настільки серйозні, що тварину усипляють. Але повідомляється і про народження зовсім здорових клонованих тварин. У клонованих поросят дуже рідко відмічаються порушення розвитку. Але нормальним неможливо назвати ні одного отриманого клона будь-якого виду тварин. Вважається, що клони взагалі живуть менше, ніж їх природні аналоги. Тести показали, що клоновані корови мали понижений рівень розумового розвитку. Дуже багато існує проблем і недосконалостей системи отримання клонованого потомства у тварин. У клітинах кожного органу працюють відповідні гени. Клонований ембріон буде розвиватись нормально, коли запрацюють ембріональні гени пересадженого ядра. Хоча досягнуто успіху у перепрограмуванні ядер при отриманні реконструйованих зародків, але цей процес далекий від досконалості.

В останні роки більш широкого розмаху набуває терапевтичне клонування. Це пов'язане із заборонаю у багатьох країнах світу (з етичних міркувань) досліджень по репродуктив-

ному клонуванню у людини. В зв'язку з цим вчені почали пошук нових альтернативних шляхів одержання тканин організму. Терапевтичне лікування або клітинна терапія, хоча і передбачає використання ембріонів лише на декілька днів для отримання ембріональних стовбурових клітин, але для здійснення цього потрібне запліднення *in vitro* ооцитів, що і викликає певні етичні суперечки. Вчені вважають, що отримання зародків шляхом партеногенезу дасть можливість подолати етичні протиріччя проти терапевтичного клонування. В Інституті розведення і генетики тварин УААН розроблена методика активації ооцитів корів до амейотичного партеногенезу [23]. Амейотичні партеногеноми розвиваються *in vitro* до стадії ранньої морули (3,5%). Досліджено ефективність розвитку поза організмом мейотичних партеногенетичних зародків свиней в залежності від використаних середовищ (рис.8). Отримано найвищий рівень активації яйцеклітин свиноматок (98,5%) 7%-м розчином етанолу до партеногенетичного розвитку.

Останнім часом у світі з'явився термін "новітні біотехнології", до яких зокрема відносять одержання зародків сільськогосподарських тварин методом запліднення *in vitro* ооцитів, вилучених з яєчників живих генетично цінних тварин (ovum pick-up), культивування *in vitro* ізольованих доантральних фолікулів яєчників, одержання зародків *in vitro* з використанням мікрomanipуляційної техніки, наприклад методом мікроін'єкції поодиноких сперматозоїдів та сперматид в ооплазму яйцеклітин (ICSI - Intracellular sperm Injection), розподіл чоловічих гамет плідників на сперматозоїди, що

несуть X- та Y-хромосому за кількістю ДНК за допомогою проточної цитометрії при проходженні сперміїв крізь лазерне проміння, одержання і культивування *in vitro* клітинних ліній (ембріональних стовбурових клітин, ліній соматичних клітин плодів, новонароджених та дорослих тварин), клонування зародків та тварин методом пересадки ядер, отримання трансгенних тварин, вітрифікація зародків і ооцитів, ДНК-технології. Серед останніх зокрема привертають увагу ДНК-технології, спрямовані на синтез олігонуклеотидів, секвенування нуклеїнових кислот, одержання *in vitro* рекомбінантних ДНК та ДНК-технології, що дозволяють одночасно проаналізувати велику кількість локусів - ДНК-фінгенпринтинг, варіанти полімеразної ланцюгової реакції, насамперед RAPD-PCR [28].

Перелік літератури

1. Балацкий В. Н., Метлицкая Е. И., Ревенко А. И. Достижения генетики - в практику селекционной работы // Свиноводство. - 1998. - № 5. - С. 2-3.
2. Буркат В. П., Кузнецов В. Е. Біотехнологічна селекція: етичні аспекти // Твар. Укр. - 1998. - 4. - С.17 - 19.
3. Зубець М. В., Буркат В. П., Єфіменко М. Я. та Ін. Генетико-селекційний моніторинг у молочному скотарстві / Ред. В. П. Бурката. - К.: Аграрна наука, 1999. - 88с.
4. Дзіцюк В. В. Цитогенетичний аналіз мейотичних хромосом з еякулятів бугаїв. // Вісник аграрної науки. - 2005. - № 5. - С. 41 - 44.
5. Димань Т. М. Методичні рекомендації щодо визначення генотипів великої рогатої худоби за локусом гена капа-казеїну з використанням методу полімеразної ланцюгової реакції - Біла Церква, 2001. - 19 с.
6. Ефіменко Л. И., Россоха В. И. Ивашура М. Н., Добродеева Л. Т. Экспресс-метод выбора родоначальников с использованием цитогенетических показателей // Тез. докл. на 4 Междунар. Конф. по пробл.

- "Научно-производственные аспекты развития отрасли свиноводства"- Лесные Поляны - 1997. - с.74.
7. Жигачев А. И. Оценка производителей на скрытые генетические дефекты.- Зоотехния, 2001, № 2 - С. 10 - 12.
 8. Збірник матеріалів II Міжнародної конференції "Використання сучасних молекулярно-генетичних і біотехнологічних розробок у генетико-селекційних дослідженнях" - . К.: Аграрна наука, 1998. - 137 с.
 9. Зубець М. В., Буркат В. П., Кузнєцов В. Є., Єлізарова І. Б., Шеховцов С. Ю., Шеховцова О. Ю. Одержання монозиготних телят від половинок ембріона // Вісн. агр. науки. - 1994. - №8. - С. 57 - 59.
 10. Зубець М. В., Буркат В. П., Кузнєцов В. Є., Єлізарова І. Б., Шеховцов С. Ю., Шеховцова О. Ю. Одержання монозиготних телят від половинок ембріона // Вісник аграрної науки. - 1994. - №8. - С. 57 - 59.
 11. Ковтун С. І. Одержання зародків свиней *in vitro*: стан та перспективи використання Особливості кріоконсервування ембріонів та ооцитів ссавців методом вітрифікації. // Вісник аграрної науки. - 2004. - №5. - С. 52 - 54.
 12. Кузнєцова І. Б., Кузнєцов В. Є., Ковтун С. І., Мелешко Н. Я. Получение зародышей крупного рогатого скота методом оплодотворения *in vitro* // Вісник аграрної науки. - 1999. - №10. - С. 52 - 55.
 13. Кузнєцов В. Є. Біотехнологія у тваринництві // В кн. "Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліть"/ Ред. В. В. Моргун. - К., Логос. - 2001. - Том 4. - С.31 - 57.
 14. Кузнєцов В. Є., Басовський Д. М., Ткаченко С. В. Мікрохірургічне ділення ембріонів та одержання химерних зародків як способи клонування у ссавців // Вісн. Білоц. держ. агр. універ. - 1998. - Вип.4, ч.1. - С. 254 - 258.
 15. Кузнєцов В. Є., Ковтун С. І. Вітрифікація ембріонів ссавців // Наук.-вироб.конф. "Біотехнологічні, селекційні та організаційні методи відтворення, зберігання і використання генофонду тварин". - К., 1997. - С. 79 - 81.
 16. Кузнєцов В. Є., Кузнєцова І. Б., Басовський Д. М., Шеховцов С. Ю. Дослідження життєздатності половинок і четвертинок морул-бластоцист великої рогатої худоби, отриманих *in vivo* та *in vitro*, методом культивування поза організмом // Вісник аграрної науки. - 1999. - № 7. - С. 37 - 40.
 17. Кузнєцова І. Б., Кузнєцов В. Є., Ковтун С. І. Особливості кріоконсервування ембріонів та ооцитів ссавців методом вітрифікації. // Вісник аграрної науки. - 1999. - №2. - С. 42 - 45.
 18. Кузнєцова І. Б., Кузнєцов В. Є., Лукашенко О. О. Активація ооцитів корів до партеногенетичного розвитку етанолом // Цитологія і генетика. - 2000. - Т.34, № 1. - С.57-64.
 19. Кузнєцова І. Б., Мелешко Н. Я., Ковтун С. І. Вивчення можливості короткочасного зберігання епідидимальних сперматозоїдів бугаїв при +4 °С // Міжнар.наук.-вироб.конф. "Використання трансплантації ембріонів в селекції і відтворенні сільськогосподарських тварин". - К., Асканія-Нова, 1997. - С. 35.
 20. Мадисон В. В., Мадисон Л. В. Трансплантація змбрионов на грани двух тысячелетий. //Ефективне птахівництво та тваринництво. - 2004. - №9 (21). - С.12 - 16.
 21. Мартиненко Н., Коваленко В., Чирков О., Денисюк П., Почерняєв К. Одержано перше порося методом безкровної трансплантації // Тваринництво України. - 1998. - № 7. - С. 12.
 22. Мюллис Б. Кэрри Необычная история о том, как родилась полимеразная цепная реакция // В мире науки. - 1990. - №6. - С. 26 - 34.
 23. Остаповець Л. І., Ковтун С. І. Активація *in vitro* яйцеклітин корів до партеногенетичного розвитку // Вісник аграрної науки. - 2004. - № 10. - С.56 - 58.
 24. Осташко Ф. И. Биология воспроизводства крупного рогатого скота. - К.: Урожай - 1995 - С. 95 - 119.
 25. Почерняєв К. Ф. Визначення гаплотипів свиней з використанням методу породо-специфічного ПЛР-ПДРФ мітохондріальної ДНК // Ветеринарна біологія. - 2005. - №6. - передано до друку.
 26. Почерняєв К. Ф. Використання поліморфізму мітохондріальної ДНК у дослідженні сільськогосподарських тварин // Вісник Полтавської державної аграрної академії. - 2003. - С.121-125.
 27. Програма селекції української молочної червоної породи великої рогатої худоби

- на 2003 - 2012 роки. К.: ТОВ "Атмосфера", 2004. - С. 120 - 123.
28. Сиволап Ю. М. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях. К.: Аграрна наука, 1998. - 156 с.
29. Шаловило С. Г., Шаран М. М., Пасіцький М. Д. Удосконалення надшвидкого методу заморожування і деконсервації ембріонів без відмивання і виведення кріопротекторів // Матеріали Міжнародної науково-виробничої конференції "Використання трансплантації ембріонів в селекції і відтворенні сільськогосподарських тварин". - Асканія-Нова. - 1997. - С. 87 - 88.
30. Шеховцов С. Ю. Вплив генотипів донорів і реципієнтів при трансплантації ембріонів на приріст телят. // Вісник аграрної науки. - 2004. - №4. - С. 82 - 84.
31. Щербак О. В. Використання методу вітрифікації при заморожуванні ембріонів великої рогатої худоби. // Вісник аграрної науки. - 2005. - №2. - С. 77 - 78.
32. Bredbacka K., Bredbacka P. Glucose controls sex-related growth rate differences of bovine embryos produced *in vitro* // J. Reprod. Fertil. - 1996. - 106. - P. 169 - 172.
33. Bredbacka P. Recent developments in embryo sexing and its field application // 14e Reunion A.E.T.E. - 1998. - P. 105 - 111.

Представлено С. С. Малютою
Надійшла 30.09.2005 р.

ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ ГЕНЕТИКИ И
БИОТЕХНОЛОГИИ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

В. П. Буркат, В. В. Дзіцюк, С. И. Ковтун

Институт разведения и генетики
животных УААН
08321, Киевская обл., Бориспольский р-н,
с. Чубинское, ул. Погребняка, 1

Обсуждается эффективность и прикладные аспекты использования современных генетических и биотехнологических методов в животноводстве.

Ключевые слова: геном, цитогенетическая экспертиза, цитогенетика, ДНК-технологии, полимеразная цепная реакция, эмбрион, партеногенез, клонирование, эпидидимальные сперматозоиды.

THE APPLIED ASPECTS OF GENETIC AND
BIOTECHNOLOGY FOR STOCKBREEDING

V. Burkat, V. Dzitsiuk, S. Kovtun

Institute of Animal Breeding
and Genetics UAAS,
Chubinske vil., Boryspil district, Kyiv region

If is discussed the effects of the usage and applied aspects of modern genetics and biotechnological method for stockbreeding.

Key words: genome, cytogenetic investigation, cytogenetics, DNA-technology, polymerase chain reaction, embryo, parthenogenesis, cloning, epididymal spermatozoa.

УДК 577.391:615.849.12:576.312.33:576.312.33

РАДИОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДЕЙСТВИЯ БЫСТРЫХ НЕЙТРОНОВ

Э. А. ДЕМИНА

Институт экспериментальной патологии, онкологии и
радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого НАН Украины
03022, Киев, ул. Васильковская, 45

Проведен анализ биологических, в том числе цитогенетических особенностей действия быстрых нейтронов, используемых в радиобиологических экспериментах и лучевой клинике. Особое внимание уделено изучению выраженности процессов репарации при воздействии плотноионизирующих излучений.

Ключевые слова: нейтроны, стадии митотического цикла, хромосомы

Повышение эффективности лучевой терапии злокачественных новообразований остается актуальной задачей в области экспериментальной и клинической радиобиологии. Самостоятельное использование редкоионизирующего излучения часто оказывается неэффективным из-за наличия клеток, резистентных к действию излучений с низкой линейной передачей энергии (ЛПЭ). В основе подобной резистентности - гипоксическое состояние опухолевых клеток и нахождение их в определенных периодах клеточного цикла, способность к репарации радиационных повреждений. Одним из перспективных направлений повышения эффективности лучевой терапии является использование в клинической практике плотноионизирующих излучений: протонов, пи-мезонов, тяжелых ионов, нейтронов с учетом высоких параметров энерговыделения этими излучениями в тканях, преимуществ пространственного распределения поглощенной дозы, экономического фактора и т.д. Научно-исследовательские работы по использованию быстрых нейтронов для повышения эффективности лучевой терапии больных злокачественными новообразованиями различных локализаций ведутся около 40 лет. Считается, что примерно 30% онкологических больных показана лучевая терапия с использованием быстрых ней-

тронов, что улучшает результаты лечения на 20% [1].

Нейтроны были открыты английским ученым Д. Чедвиком в 1932 г., что послужило началом "**нейтронной физики**". Было установлено, что в отличие от других видов радиации, действие нейтронов на биологические ткани сопровождается развитием сложных специфических реакций. Процессы поглощения быстрых нейтронов в биологических тканях характеризуются в основном упругим рассеянием - 95% энергии передается возникающими протонами отдачи, для которых ЛПЭ значительно выше, чем у электронов, образующихся при облучении гамма-квантами. Высокая плотность ионизации и высокие значения ЛПЭ обуславливают характер развития и степень выраженности лучевых поражений. Повреждения, индуцируемые в биологических объектах быстрыми нейтронами, более значительны и менее обратимы, а биологическое действие на аноксические и оксигенированные клетки в значительной мере выравнивается. Эти данные и послужили основой для предположения о преимуществах нейтронной терапии перед известными методами лечения радиорезистентных опухолей, вследствие чего перспективы усовершенствования лучевой терапии в дальнейшем связывали с использованием излучений с высокими ЛПЭ.

Исследования по "**нейтронной терапии**" начались с 1938 г. - впервые в г. Беркли (США) под руководством Роберта Стоуна использовали нейтроны 60-дюймового циклотрона. Однако работа еще не основывалась на серьезных дозиметрических и радиобиологических исследованиях.

Вследствие этого, несмотря на благоприятный в ряде случаев терапевтический эффект, использование метода было приостановлено ввиду высокого поражающего действия нейтронов не только на опухолевые, но и на нормальные ткани, с развитием поздних тяжелых постлучевых осложнений. Это привело к ошибочному выводу о бесперспективности использования нейтронной терапии и на много лет задержало развитие работ в этой области. В то же время изучение биологического действия нейтронов продолжалось в связи с тем, что понадобились соответствующие санитарно-гигиенические рекомендации для расширяющегося круга профессионалов, работающих на атомных реакторах.

Опыт проведения исследований, связанных с лучевой терапией больных, убедительно показал, что внедрение новых видов ионизирующих излучений в клиническую практику должно последовательно пройти, по крайней мере, следующие этапы: тщательное изучение физических параметров излучения, создание четкой системы дозиметрического обеспечения как безопасных условий работы персонала, так и для научных основ планирования доз и схем облучения пациентов, клинические испытания на ограниченном контингенте больных, с последующим расширением области клинического применения и, наконец, радиобиологические эксперименты (как предшествующие, так и сопровождающие терапию), углубляющие представления о недостатках и преимуществах медико-биологического действия нейтронов. Отступление от этой системы может привести к дискредитации и длительному

торможению внедрения перспективного метода. История развития нейтронной терапии является ярким тому примером.

Работы физиков-теоретиков, усовершенствование дозиметрических методик, фундаментальные радиобиологические эксперименты выявили в 60-е годы прошлого столетия ряд интересных специфических особенностей биологического действия нейтронов, в связи с чем, спустя четверть века после неудач Р.Стоуна и сотр., возродился пристальный интерес радиобиологов и онкологов к использованию быстрых нейтронов в противоопухолевой терапии. Такие исследования были начаты в 1966 г. в Хаммерсмитском госпитале (Англия) под руководством Мэри Каттералл на первом в мире циклотроне, предназначенном специально для медицинских целей, а разработанные ею методические подходы стали основой при осуществлении нейтронной терапии опухолей различных локализаций. Использование нейтронов для терапии опухолей было под силу лишь крупным ядерным центрам (США, Англия, Германия, Франция и др.), располагающим ускорителями тяжелых частиц (дистанционная лучевая терапия). В настоящее время дистанционная нейтронная терапия для десятков онкологических центров мира считается одним из основных методов лучевой терапии больных злокачественными новообразованиями.

В Украине во второй половине 70-х годов прошлого столетия был создан медико-биологический комплекс циклотрона У-120 Института ядерных исследований НАН Украины (пучок генерируемых быстрых нейтронов со средней энергией 6 МэВ) и Киевского

научно-исследовательского рентгено-радиологического и онкологического института (ныне Институт онкологии АМН Украины, Киев), на базе которого вполне успешно проводились многоплановые радиобиологические, физико-дозиметрические и клинические исследования, в результате чего накоплен уникальный опыт по использованию нейтронов этой энергии в дистанционной лучевой терапии онкологических больных [2-6].

Для исследований в области "нейтронной радиобиологии" характерны периодические подъемы и спады интереса исследователей к этой области знаний. И хотя получены веские данные, свидетельствующие о эффективности использования быстрых нейтронов в лучевой терапии злокачественных новообразований различных гистологических форм и локализаций, радиобиологическое обоснование клинических схем такого облучения все еще отстает от запросов лучевых терапевтов. Известно, что радиобиологическими предпосылками использования нейтронов в лучевой терапии является меньшая зависимость действия от фазы клеточного цикла, насыщение клеток тканей кислородом, низкая вероятность репарации сублетальных повреждений, слабая разница в радиочувствительности клеток различных опухолей. При этом ряд фундаментальных и прикладных вопросов еще требуют углубленного изучения, к которым относят целенаправленную модификацию эффектов нейтронного воздействия, зависимость вариабельности относительной биологической эффективности от величины, мощности и энергии быстрых нейтронов, периода клеточного цикла и др.

Одной из основных особенностей биологического действия быстрых нейтронов является меньшая выраженность кислородного эффекта. Полагают, что при нейтронном облучении присутствие кислорода менее значимо для образования первичных радиохимических продуктов по сравнению с редкоизирующими излучениями, вследствие высокой плотности ионизации. Фактор преимущества, определяемый как отношение коэффициента кислородного усиления сравниваемых излучений, при действии нейтронов в зависимости от их энергии равен 1,5-2,0. Это означает, что в гипоксических условиях нейтроны оказываются примерно в два раза эффективнее редкоизирующих излучений, что приобретает особо важное значение при облучении опухолей, содержащих, как правило, фракцию гипоксичных клеток с радиорезистентными свойствами.

Второй особенностью биологического действия нейтронов является слабая выраженность репарации сублетальных повреждений. Известно, что дозовая кривая выживаемости клеток при действии редкоизирующих излучений имеет сигмоидную зависимость, а плечо на кривой выживания определяет способность клеток к восстановлению. При нейтронном же воздействии дозовая кривая выживаемости клеток имеет экспоненциальный характер либо небольшое плечо, что может свидетельствовать об отсутствии либо меньшей выраженности репарации радиационно-индуцированных повреждений. Кроме того, для решения вопроса о существовании процессов репарации при действии нейтронов сыграли значение исследования эффекта

мощности и фракционирования дозы нейтронов. Установлено, что даже тысячекратное различие в мощности дозы нейтронов существенно не сказывается на выходе аберраций хромосом при облучении лимфоцитов человека. В литературе сообщается об отсутствии эффекта фракционирования дозы нейтронов, либо этот эффект выражен в два раза слабее, чем при рентгеновском, что по сути доказывает существование репарации, хотя и менее выраженной, при действии излучений с высокой ЛПЭ.

Установлена большая цитогенетическая эффективность нейтронов (от тепловых до быстрых) по сравнению с действием редкоизирующих излучений, причем с увеличением дозы относительная биологическая эффективность (ОБЭ) нейтронов уменьшается. В отличие от редкоизирующих излучений, для которых характерно линейно-квадратичная зависимость эффекта от дозы, при нейтронном облучении суммарный выход аберраций хромосом, хромосомных обменов подчиняется линейной зависимости от дозы излучения. Указанная закономерность сохраняется лишь для нейтронов низких энергий (до 1 МэВ), а нейтроны более высоких энергий (14-15 МэВ) характеризуются, как и редкоизирующие излучения, линейно-квадратичной зависимостью эффекта от дозы. Такой характер дозовых кривых при действии излучений различного качества объясняется с позиций ЛПЭ, поскольку биологическую эффективность излучения, в основном, определяет плотность ионизации.

Установлена зависимость между энергией, ЛПЭ и ОБЭ нейтронов. Оказалось, что ОБЭ нейтронов по выходу

абerrаций хромосом в культуре лимфоцитов периферической крови человека возрастает до определенного предела энергии - 0,2-0,4 МэВ, что соответствует ЛПЭ порядка 100-200 КэВ/мкм, после чего происходит ее спад. Исследования, выполненные на молекулярном уровне, показали, что при действии нейтронов повышается выход двунитевых разрывов ДНК, максимум которых отмечается также при величине ЛПЭ, равной 100-200 КэВ/мкм. Совпадение максимума ОБЭ нейтронов для выхода двунитевых разрывов ДНК и абerrаций хромосом при одном значении ЛПЭ свидетельствует в пользу того, что в основе образования радиационно индуцированных абerrаций лежат двойные разрывы ДНК [7].

Так как обменные абerrации являются результатом взаимодействия двух первичных повреждений хромосом, то при ЛПЭ, равной 100-200 КэВ/мкм, вероятность взаимодействия внутритрековых первичных повреждений повышается. Мы полагаем, что в пользу этого свидетельствует полученное в наших исследованиях более высокое отношение числа абerrаций обменного типа к числу делеций по сравнению с редкоионизирующим излучением. Дозовая зависимость ОБЭ нейтронов наиболее четко регистрируется при учете абerrаций хромосом в лимфоцитах человека. Известно, что митотический цикл - это сложный физиологический процесс, включающий подготовку клетки к синтезу новой ДНК и осуществление ауторедупликации хромосом, подготовку к митозу и точному распределению хромосом в дочерних клетках. Эти сложные изменения, происходящие на протяжении цикла, находят

отражения в качественных и количественных особенностях реакции хромосом на облучение. Поэтому изучение ОБЭ нейтронов в зависимости от периода митотического цикла соматических клеток человека стало предметом особого внимания. Нами установлено, что с повышением дозы значения ОБЭ нейтронов на всех стадиях митотического цикла уменьшаются. Максимальные значения ОБЭ нейтронов регистрируются при облучении лимфоцитов в постсинтетическом периоде митотического цикла [8].

Реакция хромосом клеток человека на ионизирующие излучения определяется с одной стороны, особенностями их физических свойств, а с другой - функциональным состоянием клеток в момент облучения. В этой связи целенаправленного и углубленного изучения требуют вопросы, связанные с дозовой зависимостью ОБЭ нейтронов от стадии клеточного цикла с целью преодоления радиорезистентности клеток. Поскольку высокая ОБЭ, в частности, быстрых нейтронов сама по себе не может обуславливать преимущества их применения в лучевой терапии, то усилия радиобиологов направлены на определение качественных особенностей действия нейтронов.

Развитие исследований в этом направлении остается актуальным в связи с тем, что нейтронное излучение вносит весомый вклад в формирование дозовых нагрузок населения за счет естественного и техногенного радиационного фона, что обуславливает необходимость проведения мониторинга нейтронных доз профессионального облучения. В то же время рекомендованные нормативы ра-

диационной безопасности для нейтронов остаются условными и требуют уточнения. Это связано с переоценкой поглощенных доз, полученных в результате атомной бомбардировки Хиросимы и Нагасаки, что лишает радиационную медицину популяционных данных для дефиниции радиационного риска при действии нейтронов. Значения радиационного риска нейтронного облучения могут основываться только на результатах экспериментальных радиобиологических исследований. Кроме того, в последние десятилетия изменились также и представления о репарации повреждений и пределах модификации эффектов, индуцированных нейтронами.

Мы обобщили результаты собственных радиобиологических исследований, выполненных на цитогенетическом уровне соматических клеток человека [4, 9-11]. При этом целесообразно выделить основные, с нашей точки зрения, наиболее интересные закономерности образования аберраций хромосом в циркулирующих лимфоцитах человека при воздействии быстрых нейтронов со средней энергией 6 МэВ в различные периоды митотического цикла, а также в условиях термической модификации, и дать им объяснение с позиций радиобиологических закономерностей и законов.

Результаты наших исследований свидетельствуют, что так же, как и при гамма-облучении, при действии быстрых нейтронов радиочувствительность хромосом человека варьирует как качественно, так и количественно на протяжении митотического цикла. Четко регистрируется переход аберраций хромосомного типа в хрома-

тидный по мере продвижения клеток к митозу, в первой половине превалируют обменные аберрации, во второй - фрагменты. Наименьшая радиочувствительность при обоих видах излучений обнаружена в стадии репликативного синтеза ДНК, а ее пики - в позднем G₁- и G₂-периодах. Для кривых стадия-эффект при действии нейтронов характерна некоторая сглаженность по сравнению с гамма-лучами.

Согласно исследованиям Н. В. Лучника, радиационно-индуцированные повреждения возникают в клетках примерно с одинаковой частотой на всех стадиях цикла, а количественное варьирование радиочувствительности хромосом по циклу обуславливается степенью репарации этих повреждений, эффективность действия которой приурочена к определенным стадиям митотического цикла. Наличие дифференцированной радиочувствительности соматических клеток человека в различные периоды митотического цикла при действии нейтронов (6 МэВ), а также сходство формы кривых "стадия-эффект" при действии гамма-лучей и нейтронов позволяет с полной уверенностью утверждать, что на форму зависимости "стадия-эффект" влияют процессы репарации, выраженность которых зависит от дозы и качества излучения.

Из количественных радиобиологических закономерностей наиболее существенна связь дозы облучения и величины эффекта, то есть зависимость "доза-эффект". Это оказалось особенно важным для нейтронного излучения, характеризующегося весьма сложным процессом энерговыделения в биологических тканях. Совокупность полученных нами экспе-

риментальных данных позволяет заключить, что дозовая зависимость выхода aberrаций хромосом при воздействии быстрых нейтронов (6 МэВ) в отличие от таковой при действии гамма-лучей, либо линейная, либо описывается кривыми с насыщением при высоких дозах. С целью более объективной оценки полученных данных, важно учитывать методологию интерпретации характера дозовых кривых.

Наиболее популярной является так называемая линейно-квадратичная модель, развитая на основе микродозиметрических концепций, которые Келлерер и Росси сформулировали в их известной теории дуального действия. В рамках этой модели дозовые кривые, промежуточные между линейной и квадратичной (а таковы большинство дозовых кривых, описанных в литературе) объясняются тем, что энергия, которая должна поглотиться в мишени для формирования биологического эффекта, может быть получена в результате как одного, так и двух попаданий. В связи с этим, кривые описывают уравнением $Y = \alpha D + \beta D^2 + C$ и считают, что коэффициенты, стоящие перед D и D^2 , отра-

жают относительную роль двух механизмов. Отношение α и β дает величину λ , которая соответствует той дозе, при которой роль одно- и двуударного компонента одинакова. Из величины λ можно, зная микрогеометрические константы данного вида излучения, определить объем мишени.

В таблице 1 мы приводим значения λ , полученные для всех вариантов наших опытов. Как видно из таблицы, из 16 вариантов опытов, где фиксация производилась через 52 часа, в 12 случаях значения λ оказались отрицательными, чего с точки зрения линейно-квадратичной модели быть не может. Для опытов с гамма-квантами мы, кроме того, отдельно проанализировали дозовые зависимости для aberrаций обменного типа и в половине случаев получили отрицательные значения λ . Такие результаты могли бы быть связаны с гетерогенностью клеточной популяции (поэтому мы и исключили из рассмотрения опыты по фиксации через 62 часа, где гетерогенность несомненно имеет место). Однако анализ распределения aberrаций по клеткам свидетельствует, что в большинстве случаев имеют место гомогенные популяции.

Таблица 1. Значения микродозиметрического параметра λ (в единицах Гр) для разных вариантов опыта

Время облучения, часы инкубации	Время фиксации, часы инкубации	Гамма-лучи		Гамма-лучи+гипертермия	Нейтроны	Нейтроны+гипертермия
		Общее число aberrаций	Аберрации обменного типа			
0	52	+1,7	+2,9	+2,0	-422,4	+71,7
24	52	+6,3	+21,5	+5,6	-90,5	-38,6
40	52	-654,0	-0,44	-118,0	-29,3	-41,3
40	62	+503,0	+92,9	-306,0	-38,9	-41,9
48	52	-46,0	-49,1	-45,2	-22,5	-9,5
48	62	+157,9	+27,2	+374,1	-20,2	-23,8

Если наши данные и не опровергают линейно-квадратичную модель, то достаточно убедительно показывают, что она применима не во всех случаях, что отмечается и в других работах [12].

Мы полагаем, что построение дозовых зависимостей для различных цитогенетических показателей, параметров облучения, корректная интерпретация полученных зависимостей, а, главное, определение по полученным кривым "доза-эффект", переменных значений ОБЭ излучений диктует необходимость использования более динамичных математических моделей, чем линейные и линейно-квадратичные.

В этой связи мы разработали метод [13] аппроксимации экспериментальных (цитогенетических) зависимостей "доза-эффект" на основе кусочно-линейных сплайнов, что не только приводит к более точным результатам, но и позволяет установить эффект выхода калибровочной кривой на плато. Так, нами показано, что при нейтронном облучении кусочно-линейные сплайны имеют меньшую среднеквадратичную ошибку в сравнении с линейной и линейно-квадратичной моделями во всех случаях.

На наш взгляд более важным является то, что на форму описанных нами кривых в различных стадиях митотического цикла, влияют процессы репарации, зависящие от дозы, причем играть роль может как подавление "регулярной" репарации, так и индукция "аварийной". Это подтверждается тем, что при действии нейтронов на лимфоциты в период репликативного синтеза ДНК, в отличие от гамма-лучей, отмечается своеобразная форма дозовой кривой с вы-

ходом на плато, которая сохраняется при двух сроках фиксации культуры. Образование плато на дозовой кривой связано с тем, что в этот ответственный период жизненного цикла клеток "аварийная" репарация включается уже при относительно невысоких дозах облучения, что и, по нашим представлениям, исключает дальнейшее повышение цитогенетического эффекта с возрастанием дозы нейтронов.

Среди многих успешных способов повышения радиочувствительности опухолевых клеток и тканей наиболее приемлемым в настоящее время для клинической практики является гипертермический метод, заключающийся в нагревании опухолей с целью усиления ее радиационно-индуцированного поражения. Методическая база такого подхода постоянно совершенствуется. Нами установлен факт возможности модификации (усиления) цитогенетического эффекта нейтронов с помощью постлучевой гипертермии в G₁- и S-периодах митотического цикла лимфоцитов человека. Получение этих результатов на модельных нормальных клетках человека (лимфоцитах крови) с учетом ведущей роли aberrаций хромосом в репродуктивной гибели клеток значимо потому, что при сочетанном действии нейтронов и гипертермии на опухоли, содержащие фракции гипоксичных клеток, эффект радиосенсибилизации, как мы полагаем, может быть выражен более существенно. Это предположение основано на том, что, во-первых, для самих нейтронов характерна относительная независимость действия от концентрации кислорода в облучаемом объеме; во-вторых, гипертермия повы-

шает радиопоражаемость клеток в условиях гипоксии и низких значений рН, что весьма характерно для опухолевых клеток.

Таким образом, современное состояние нейтронной радиобиологии указывает на возможность оптимизации лучевой терапии с учетом особенностей действия нейтронов на хромосомном уровне соматических клеток человека.

Список литературы

1. Цыб А. Ф., Ульянов С. Е., Мардынский Ю. С. Нейтроны в лечении злокачественных новообразований. - Обнинск. 2003. - 110 с.
2. Летов В. Н., Фесенко В. В., Иевлев С. М. и др. Физические и радиобиологические характеристики пучка быстрых нейтронов циклотрона У-120 // Медицинская радиология. - 1977. - № 10. - С. 34-40.
3. Черниченко В. А., Демина Э. А., Позмогов А. И. Оценка изозффективного распределения поглощаемой энергии быстрых нейтронов при терапевтическом облучении больных // Врачебное дело. - 1993. - № 2-3. - С. 110-113.
4. Демина Э. А. Действие гамма-лучей и быстрых нейтронов на хромосомы человека в зависимости от стадии митотического цикла и пострадиационной гипертермии. Автореф. дисс. канд. биол. наук. Киев, 1983. - 24 с.
5. Демина Э. А., Черниченко В. А., Мониц А. Ю., Цыганок Т. В. Модификация эффекта быстрых нейтронов в эксперименте и лучевой практике // Радиобиология. - 1989. - 29, № 4. - С. 520-523.
6. Demina E. A., Obatirov G. M. Dosisabhängigkeit der Relativen Biologischen Wirksamkeit von Schellen Neutronen (E = 6 MeV) vom Stadium des Mitotischen Zyklus der Menschlichen Zellen // Radiobiol. Radiother.- 1988. - Vol. 22. - H.1. - P. 59-67.
7. Севаньяев А. В., Обатуров Г. М., Тятте Э. Г. и др. Хромосомные aberrации в лимфоцитах периферической крови человека, индуцированные моноэнергетическими нейтронами разных энергий // Радиобиология. - 1980. - 20, №2. - С. 200-205.
8. Dyomina E. A., Ryabchenko N. M., Voitsitskyi V. M., Hiznyak S. V. Estimation of relative biological effectiveness of 6 and 22 Mev neutrons and ¹³⁷Cs γ-rays based on the analysis of chromosome aberrations in blood lymphocytes // Report of Practical Oncology and Radiotherapy. - 2005. - Vol. 10. - No 1. - P. 43-46.
9. Демина Э. А. Кривые доза-эффект при действии нейтронов со средней энергией 6 МэВ на культуру лимфоцитов человека в различных стадиях митотического цикла // Радиобиология. - 1987. - 27, № 3. - С. 357-361.
10. Чеботарев Е. Е., Демина Э. А. Поражаемость хромосом лимфоцитов человека в различных стадиях митотического цикла при сочетанном действии быстрых нейтронов и постлучевой гипертермии. // Цитология и генетика. - 1988. - 22, №2. - С. 62-66.
11. Демина Э. А. Распределение aberrаций хромосом по клеткам при гамма- и нейтронном облучении в различных стадиях митотического цикла культуры лимфоцитов человека // Радиобиология. - 1989. - 29, № 4. - С. 485-491.
12. Нестеров Е. Б., Дикарев В. Г., Дикарева Н. С., Гераськин Р. А. Индукция цитогенетических эффектов в корневой меристеме облученных при разных мощностях дозы проростков ярового ячменя. // Проблемы радиац. генетики на рубеже веков. М.: Рос. Университет Дружбы Народов, 2000. - С. 169.
13. Дьоміна Е. А., Ключин Д. А., Петунін Ю. І., Савкіна М. Ю. Спосіб визначення величини дози опромінення. Декларац. патент України на винахід № 73212 від 11 лист. 2002 року.

Представлено І. Р. Бариляком
Надійшла 11.10.2005 р.

РАДІОБІОЛОГІЧНІ ТА ЦИТОГЕНЕТИЧНІ
АСПЕКТИ ДІЇ ШВИДКИХ НЕЙТРОНІВ

Е. А. Дьоміна

Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького
НАН України
03022, Київ, вул. Васильківська, 45

В роботі представлено радіобіологічну та цитогенетичну характеристику дії швидких нейтронів з середньою енергією 6 МеВ, що застосовуються в медицині. Одержано три докази індукції процесів репарації при дії нейтронів цієї енергії, хоча й менш виражених у порівнянні з дією гама-променів: диференційована радіочутливість лімфоцитів по стадіях мітотичного циклу, існування плато на дозовій кривій в S-стадії та можливість термічної модифікації цитогенетичних ефектів нейтронів.

Ключові слова: нейтрони, стадії мітотичного циклу, хромосоми.

RADIOBIOLOGICAL AND CYTOGENETICAL ASPECTS OF THE EFFECTS OF FAST NEUTRONS

E. A. Dyomina

Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiobiology of NAS of Ukraine
03022, Kyiv, Vasylykivska str., 45

This article presents radiobiological and cytogenetical characteristic of the effects of fast 6MeV neutrons applied in medicine practice. It was obtained three evidences of the induction of repair processes in cells irradiated by these neutrons (though less in comparison with γ -rays): differentiated radiosensitivity of lymphocytes through the stages of cell cycle, existence of plateau in dose curve in S-stage of cell cycle and possibility of thermal modification of neutron effects.

Key words: neutrons, cell cycle stages, chromosomes.

УДК 633.367.3:575.127

ФИЗИОЛОГО-БОТАНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ИНТРОДУКЦИЯ, СЕЛЕКЦИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ АМАРАНТА

В. П. ГОЛОВИН, В. В. ВОЛКОДАВ¹

Крымский институт нетрадиционного растениеводства, экологии и здоровья,
Украина, АР Крым, 950017, г. Симферополь, ул. Киевская, 67/2, к. 3;
факс: 8-0652-27-41-18; тел. 515-378.

¹ Государственная служба по охране прав на сорта растений,
Украина, 03041, Киев, ул. Генерала Родимцева, 15;
e-mail: sops@sops.gov.ua

Известная с древних времен цивилизациям инков и ацтеков культура амаранта является уникальной как по своей ботанико-генетической природе, так и по разнообразию признаков. Являясь редкостно богатой кладовой белка и незаменимых аминокислот, амарант, тем не менее, не нашел достаточно широкого применения в производстве, а его распространение характеризовалось варьированием интереса к нему в разные времена. Такая недооценка культуры, на наш взгляд, объясняется малой осведомленностью о ней и недостаточной отработанностью технологий переработки и возделывания этого ценнейшего вида растений.

Ключевые слова: амарант, сорт, урожай, белок, гибрид, популяция, масло

Биологические особенности, полезные свойства и применение Амаранта. Амарант (*Amaranthus*) - щирица - двудольное однолетнее растение, относится к семейству амарантовых. Высокопродуктивное, пластичное растение, ярового типа развития. Вегетационный период составляет 100-150 дней. Легко поддается селекционному улучшению. Это светолюбивое растение способно расти в экстремальных условиях, в т.ч. засушливых, поскольку обладает способностью высокоэффективно использовать солнечную радиацию и влагу. В засушливые периоды растение сохраняет внутриклеточную воду, закрывая устьица [1].

Исследования особенностей функционирования листа, стебля и корневой системы амаранта свидетельствуют о том, что он обладает наиболее высокой скоростью фотосинтеза. Стебель амаранта может выполнять функцию депо воды, а корневая система регулирует свое развитие в зависимости от содержания воды в почве. Согласованная

работа всех органов растения при повышенной температуре и водном дефиците обеспечивает амаранту преимущества для роста и развития по сравнению с другими культурами. В отличие от многих однолетников, амарант после полной остановки роста в период засухи легко восстанавливает его при наступлении благоприятных условий. Кратковременное затопление растений амаранта приводит к их гибели.

Соцветие амаранта является сложной структурой и представляет собой метелку. На разветвлениях центральной оси располагаются многочисленные так называемые "клубочки" - соцветия. Семена амаранта мелкие: диаметр семени 1 мм, масса - до 1 мг.

Высокой продуктивностью обладают зеленая масса и зерно; урожай зеленой массы может достигать 2000 ц/га и более, зерна - до 60 ц/га. Урожай сухой биомассы амаранта 45 - 580 ц/га. Урожайность амаранта в условиях Северного Кавказа составляет по зеленой массе от 120 до 1200 ц/га, по зерну - от 40 до 65 ц/га.

При возделывании амаранта в Белоруссии урожай зеленой массы превышает таковой кукурузы и составляет в среднем 500-800 ц/га, что позволяет собирать с каждого гектара посевов 90-130 ц кормовых единиц и до 2 т перевариваемого протеина [1].

В условиях Крыма и юго-востока Украины в настоящее время проводятся работы по интродукции и селекционному улучшению амаранта трех видов использования: для лечебных и продовольственных целей, а также в качестве ценного овощного растения [2].

Амарант обладает целым комплексом ценных качеств и может

использоваться как зерновая, кормовая, овощная, техническая и декоративная культура. Из всех известных на планете культур только шесть или семь из них служат основными источниками достаточного для человека уровня энергии и содержания белка. Амарант относится к их числу.

В листьях, стеблях и семенах амаранта содержатся аминокислоты, в том числе незаменимые: лизин, валин, гистидин, триптофан, фенилаланин, лейцин, изолейцин, треонин и метионин. При этом содержание самой дефицитной аминокислоты - лизина составляет от 4,73 до 6,17 %.

Амарант отличается высоким содержанием в зеленой массе протеина (20 % в сухом веществе), лизина (1,4 %), метионина + цистеина (1 %) и низким содержанием клетчатки (19 %), а также содержит до 140 мг каротина на 1 кг сухой массы, что обуславливает его высокие кормовые достоинства. Весьма ценным является высокое содержание (6,5-7,5 %) лизина, при этом по своим медико-биологическим достоинствам белок амаранта превосходит белок сои и молока. В частности, в зеленой массе растений амаранта сорта Скиф в фазе цветения содержится 18-20 % протеина, 2,6-3,4 % жира, 75-85 % которого составляют ненасыщенные жирные кислоты, и 21-23 % клетчатки.

Зеленая масса амаранта, кроме белка, содержит физиологически активные вещества - витамины, микроэлементы, каротиноиды, углеводы, флавоноиды, пектины. Поскольку зеленая масса амаранта содержит высокий процент рутина, она может служить ценным сырьем для получения дешевого и экологически чистого витамина Р.

Зерно и вегетативные органы амаранта содержат 18-21 % белка с оптимальным соотношением незаменимых аминокислот, включая лизин. Помимо белка зерно амаранта в зависимости вида и сорта содержит от 6 до 9,5 % жира, 80-85 % которого составляют ценные ненасыщенные жирные кислоты - олеиновая, линолевая (комплекс витамина В). В амаранте сорта Скиф идентифицированы 18 стеролов, среди которых спинастерол играет важную роль в приготовлении стероидных лекарств. Масло из семян амаранта данного сорта содержит до 10 % сквалена-биологически активного вещества, относящегося к группе стеринов. Зерно амаранта характеризуется высоким содержанием микро- (кобальт, медь) и макроэлементов: калия, кальция, фосфора, железа. В большом количестве в зерне амаранта содержатся витамин С и каротин, витамины группы В и витамин Р [1].

Вегетативная масса амаранта используется на зеленый корм, для приготовления гранул и высокобелковой пасты, силосов. Амарант метельчатый - растение короткого дня - используется на корм в виде зеленой массы, силоса, травяной муки, зерна.

Во многих странах Азии, Африки и Латинской Америки амарант используется как овощная культура. 150 г листьев амаранта по количеству белка, витаминов и солей равны 1 кг помидоров или огурцов, поэтому листья амаранта можно использовать как продукт для диетического питания. Многие виды амаранта широко применяют в качестве шпинатного растения. По питательной ценности амарант обладает высокими диетическими свойствами.

В настоящее время более 10 видов амаранта известны как зерновые культуры. Их зерно отличается высокими мукомольными качествами, по вкусу напоминает ореховые зерна и может использоваться для выпечки хлеба, кондитерских изделий, приготовления крупы и др. Амарант имеет уникальный химический состав и является перспективным сырьем для производства мучных кондитерских и хлебобулочных изделий.

По своим кормовым показателям зерно амаранта занимает промежуточное положение между зерновыми злаковыми и бобовыми, а по содержанию крахмала, лизина, витаминов, макро- и микроэлементов превосходит их. Так, в зерне амаранта достаточно высокое содержание меди и кобальта, а его крахмал по своему биологическому значению приравнивается к крахмалу стекловидных сортов кукурузы. Рекомендуется применение зерна амаранта в качестве компонента комбикормов-престартеров для выращивания телят и поросят.

В последние годы амарант относят к перспективным источникам сырья для получения ряда биологически активных соединений, используемых в пищевой и фармацевтической промышленности, таких как витамины, алкалоиды, липиды, пектины, белки и др. А высокое содержание каротиноидов, флавоноидов, пектина и др. соединений делает перспективным применение амаранта в профилактических целях и в качестве пищевых добавок.

В нетрадиционной народной медицине многих стран мира амарант издавна используется как лекарственное средство. Измельченные суше-

ные листья краснолистных овощных форм амаранта, в частности растений сорта Валентина, имеющего повышенное содержание амарантина, являются сырьем для получения пищевого натурального красителя "АМФИКРА". Содержание амарантина в листьях этого сорта колеблется от 4,5 до 8,1 мг/г сырой массы. В 1998 году по результатам сортоиспытания комиссией отдела овощеводства Госкомиссии РФ по охране селекционных достижений принято решение рекомендовать новый сорт амаранта Валентина к внесению в Государственный реестр сортов, допущенных к использованию [1].

Представляет интерес использовать масло этого растения для получения биологически активных компонентов изделий бытовой химии и косметической промышленности. Среди веществ, выделенных из амаранта и представляющих наибольшую ценность для применения в косметике и изделиях бытовой химии, следует выделить витамины рутин, кверцетин, каротиноиды (β -каротин).

Амарант может служить важным источником высококачественного белкового сырья как компонента мясных изделий. Его зерно содержит 19-21 % белка, в котором 7-8 % составляет незаменимая аминокислота лизин, а выход белка с 1 га посева амаранта составляет 50 ц. Суммарное содержание всех незаменимых аминокислот составляет 36-43 % от уровня протеина. Белок амаранта характеризуется высокой экстрактивностью, так как состоит, в основном, из двух групп полипептидов, относящихся к альбуминам и глобулинам.

Ценно, что пектин амаранта в определенных концентрациях может быть

использован для повышения зимостойкости и засухоустойчивости растений путем обработки семян за счет посева. Обработка семян пектином совместно с микроэлементами приводит к более интенсивному накоплению сахаров в узлах кущения и усиливает естественную закалку растений, способствует лучшей выживаемости растений (от 88,5 % до 92,7%). Под влиянием пектина происходит увеличение водоудерживающей способности растений. Одним из адаптивных признаков к засухе является развитие корневой системы. Как у озимой пшеницы, так и у сортов гороха под действием пектина увеличивается объем корней и площадь активнопоглощающей поверхности. Положительные изменения оводненности листьев опытных растений способствовали интенсификации синтетических процессов, лучшей выживаемости и повышению урожайности [3].

Однако следует отметить, что широкое промышленное внедрение амаранта будет зависеть от результатов его разностороннего изучения в качестве сильного азотопоглотителя.

Важной особенностью и экологически ценным свойством амаранта является высокое содержание кремния во всех органах этого растения, в том числе и в корневой системе (2,5-3,0 %). Обладая сорбционными свойствами, кремний способен нейтрализовать тяжелые металлы в почвенном растворе. Результаты химических анализов показали, что под амарантом сохранилась минимальная концентрация цинка - 2,37 мг/кг сухой почвы при предельно допустимой концентрации (ПДК) 23,0 мг/кг, под кукурузой и картофелем она достигала 3-4 мг/кг. Содержание марганца под

амарантом колебалось в пределах 12-18 мг/кг (ПДК - 20 мг/кг) (максимальные концентрации отмечены под соей и кукурузой - на 7-16 мг/кг выше ПДК). Содержание меди под амарантом не превышало 2 мг/кг. Следовательно, амарант может быть использован в севообороте как сорбент, накапливающий органические вещества и сохраняющий экологически чистую среду для последующей культуры.

Появление таких заболеваний, как рак, диабет, сердечно-сосудистые заболевания, тесно связано с однообразным питанием человека, как считает американский специалист в области питания Джон Робсон. Проанализировав забытые ныне культуры, он выдвинул предположение о необходимости употребления в пищу, например амаранта, - высокобелковой культуры, белок которой сбалансирован по аминокислотному составу и содержит лизина в 2 раза больше, чем белок пшеницы, и в 3 раза больше, чем белок кукурузы. Такие же данные получены Ботсадом Казанского государственного университета [1].

Амарант издавна используется в нетрадиционной медицине многих стран мира как противовоспалительное, кровоостанавливающее и антибактериальное средство. Благодаря оптимальному соотношению липидной и белковой фракций, высокому содержанию биологически активных веществ (БАВ) и др. факторам, зеленая масса и семена амаранта обладают радио- и цитопротекторными, противовоспалительными, антисклеротивными, иммуностимулирующими свойствами.

Выделенный из листьев салатных форм амаранта *Amaranthus tricolor* L. препарат красителя "Амфикра" со-

держит в качестве основного красящего вещества красно-фиолетовый пигмент амарантин, который проявляет свойства, характерные для этой физиологически активной группы соединений. Амарантин обладает активирующим эффектом в малых концентрациях (10^{-7} - 10^{-8} М) и ингибирующим - в больших (10^{-3} М) в разнообразных биологических модельных системах. На основании изучения механизма антиокислительного действия "Амфикра" авторами сделан вывод о том, что амарантин является эффективным перехватчиком водорастворимых радикалов кислорода с активностью, равной активности аскорбата и урата; амарантин восстанавливает ионы двухвалентного железа и нейтрализует пероксильные радикалы, образующиеся в липидной фазе мембран липосом [1].

Лечебные масла, получаемые из зерна амаранта, обладают противоопухолевым, радиопротекторным и общежизненнодействующим действием. Масло амаранта может применяться (как и облепиховое) для лечения язвенных заболеваний желудочно-кишечного тракта. Так, в отделении радиотерапии Воронежского областного онкологического диспансера проведены исследования терапевтических свойств масла, полученного из семян амаранта гибридного, по разработанной авторами технологии (патент РФ от 27.05.1997). Предположение о лечебных свойствах масла сделано на основании известных данных о том, что, например, сквален является предшественником стероидных гормонов и витамина Д, а токоферолы (витамины Е) - естественными антиоксидантами и радиопротекторами. Клинические испытания показали явно

выраженный положительный эффект по снижению кожных лучевых реакций. Наличие устойчивой тенденции к угнетению опухолевого роста позволило авторам обоснованно ставить вопрос о целесообразности применения масла семян амаранта в профилактических антиканцерогенных целях [1].

Амарантовое масло оказывает регулирующее действие на липидный обмен, мембраностабилизирующее, противовоспалительное, анальгезирующее и выраженное стимулирующее влияние на процессы эпителизации и грануляции тканей. Это показали фармакологические исследования, проведенные в Воронежской государственной медицинской академии по применению амарантового масла в клинике детских болезней. Амарантовое масло, полученное в Воронежском университете по оригинальной, запатентованной в России методике, применяли в детской клинической больнице ст. Воронеж ЮВЖД и детской поликлинике у детей в возрасте от 6 месяцев до 12 лет. Установлено, что применение амарантового масла в комплексной терапии заболеваний кожи и слизистых оболочек у детей позволяет сократить сроки лечения в 3,5 раза. Терапевтическое действие амарантового масла в детской стоматологии при лечении стоматитов и парадонтитов состоит в быстром уменьшении болевой реакции и отека слизистой рта, что нормализует прием пищи у детей. При лечении экземы и трофических язв голени амарантовое масло быстро уменьшает зуд и стимулирует эпителизацию.

Отмечено эффективное влияние пектиновых и белковых гидролизатов

амаранта на рост и функциональное состояние ремонтного молодняка кур. Проводились исследования влияния влажных белково-витаминных добавок (БВД) из амаранта на рост, развитие, сохранность, иммунный статус молодняка кур яичного направления породы Белый леггорн и Родонит, которые выявили увеличение живой массы молодняка кур в среднем на 10-12 % по сравнению с сухим контрольным рационом. Наблюдали существенное повышение сохранности птицы: отход поголовья, получавшего оптимальные дозировки исследованных добавок, снижался почти вдвое.

Амарант находит практическое использование и в биотехнологии молочных продуктов. Разработаны два способа использования амаранта: первый - обогащение кисломолочных продуктов за счет экстрагирования водорастворимых ингредиентов из помола семян амаранта непосредственно в молочную основу; второй - извлечение липопротеинового комплекса (ЛПК) и использование его как заменителя молочного белка в рецептуре творожных изделий и сыров. Физико-химические показатели получаемой таким способом творожной массы, содержащей 10 % ЛПК, следующие: массовая доля жира - 1 %, белка - 14,1 %, углеводов - 13 %, влаги - 71,9 %, титруемая кислотность - 220 Т. Авторами разработки сделано заключение о перспективности практического применения семян амаранта как в виде помола, так и путем получения ЛПК в технологии кисломолочных напитков и молочных изделий [1].

Интродукция, селекция и сорта амаранта. Начиная с 1980 г. в засуш-

ливых условиях Донбасса и Крыма нами проводится работа по интродукции разных видов амаранта, их селекционно - генетическому улучшению и использованию в разных отраслях народного хозяйства и медицине. При этом особое внимание уделялось изучению коллекции и созданию генетического банка амаранта различных видов, экотипов, сортов, линий, гибридов и гибридных популяций из местных переопыленных и диких форм. Для его пополнения важна интродукция из других стран и регионов, в том числе путем организации специальных экспедиций.

Для селекции успешно используется классический метод отбора - индивидуальный, индивидуально-семейственный и массовый отбор комплекса или отдельных признаков, в частности, многоотавность, засухоустойчивость и устойчивость к засолению. Особую перспективу в селекционной работе обеспечил метод улучшения массового отбора в F_2 - F_3 поликроссных популяций.

К настоящему времени одинаково перспективно для сельскохозяйственного производства однократное использование гетерозиса у первого поколения гибридов амаранта и использование его многократного эффекта в генетической системе гибридных популяций.

Так, первое поколение гибридов мы получили путем межвидовых, межлинейных и внутрисортных скрещиваний. Изучение более 100 гибридов, полученных в НПО "Гетерозис" и в лаборатории светофизиологии Красноярского госуниверситета, показало перспективность сочетания в гибриде амаранта багряного (*A. paniculatus* L.) и овощного (*A. gangeticus* L.)

для синтезирования высокорослых, с высокой вегетативной и семенной продуктивностью среднеранних гибридов и гибридных популяций.

Комбинация *A. mantegazzianus* и *A. edulis* обеспечивает самую мощную вегетативную (до 2000 ц/га) и семенную продуктивность, может быть рекомендована для южных районов страны. В то же время гибриды *A. mantegazzianus* и *A. paniculatus* скороспелы и хороши на силос в средней полосе. А гибридная комбинация К-28024 (амарант гибридный № 388) и К-58 (*A. lividus* L.) дает ультраскороспелые формы, обеспечивающие устойчивое семеноводство в более северных регионах.

Испытания в Крыму (НПО "Гетерозис") и Харькове (Ботсад ХГУ) указывают на перспективность гибридизации сортов Донецкий 1 и Понтийский высокорослый. На кафедре генетики ХГУ (проф. В. Г. Шахбазов) изучаются отдельные комбинации для выяснения биофизической природы гетерозиса у гибридов амаранта.

Исследуется и используется полиплоидия как способ продления гетерозисного эффекта у гибридов и гибридных популяций.

Используя метод гибридных популяций, или свободного переопыления генетически неродственных компонентов, получен гетерогенный сорт Донецкий 12, хорошо адаптированный к условиям севера и юга, богатыр и полива и успешно произрастающий на самых разных почвах. Сорт успешно проходит государственное и производственное сортоиспытание. Сорт кормового назначения, но имеет большую семенную продуктивность, поэтому может быстро занять большие ареалы возделывания.

По данным экологического сортоиспытания в степных и засушливых богарных условиях, выделен и признан перспективным другой сорт нашей селекции - Понтийский высокорослый, синтезированный методом массового улучшающего отбора высокорослых и с высокой вегетативной продуктивностью растений в сложной популяции амаранта белого. В станционном богарном сортоиспытании сорт Понтийский дал урожай зеленой массы 630 ц/га и семян 13,5 ц/га, стандарт - сорт Эльбрус, соответственно - 473 и 9,2 ц/га.

С одновременным использованием генетической системы гибридных популяций и мутагенеза нами создана новинка зернового амаранта (для лечебно-производственных целей) - сорт Геркулесик. Он получен в результате трехкратного массового отбора метелок, лучших по семенной продуктивности и качеству зерна, в поликроссе мутанта белый крупяной. Превзошел в конкурсном испытании сорт амаранта Эльбрус и гибрид кукурузы Днепровский 273 МВ по всем основным параметрам продуктивности и качества, особенно белка и жира.

Для ускорения процесса селекции проводятся морфологический, математический и цитогенетический анализ и сравнительная оценка индивидуальных различий расположения эу- и гетерохроматина у исходных форм и их гибридов. Изучены особенности морфологии хромосом амаранта (линий и гибридных форм).

Синтез гомозиготных линий амаранта осуществляется методом обычного самоопыления (получены $I_2 - I_5$ разнорослых, неосыпающихся, устойчивых к полеганию, с высоким содержанием лизина, каротина, угле-

водов и жира), методом выявления и получения гаплоидных апомиктов - родоначальников идеально гомозиготных линий, и методом культуры тканей - для создания андрогаплоидов из пыльцы и матроклинных гаплоидов из соматических клеток исходных особей. При этом методом электрофореза проводится идентификация и оценка индивидуальных особей, линий и гибридов по ряду биохимических и других признаков.

При получении хемомутантов в основном использовали такие мутагены, как этиленимин (ЭИ), нитрозоэтилмочевина (НЭМ) и диметилсульфат (ДМСФ), в концентрациях от 0,1 до 0,0001 % и такой исходный материал, как сложногибридный сорт Донецкий 1, линия салатного типа, сорт Понтийский высокорослый, амарант белый и хвостатый.

Так, от обработки сорта Донецкий 1 ЭИ получена мутация "мощная компактная метелка", а от воздействия ДМСФ - "облиственный ветвистый стебель". При обработке низкорослой салатной линии НЭМ получена мутация "салатная высокорослая", а методом свободного селективного перепыления линии "салатная высокая" и семи высокорослых зеленометельчатых отборов в сорте Донецкий 1 создан перспективный синтетический сорт амаранта Зеленый высокорослый со средней высотой растения 260 см, устойчивый к полеганию и засухе, обеспечивающий урожай зеленой массы 550-900 ц/га на богаре и 900-1400 ц/га на орошении. От обработки НЭМ также получена мутация "пурпурный лист и стебель" - хороший маркерный признак для специальных генетических исследований и селекции на гетерозис у гибридов и

гибридных популяций. На амаранте хвостатом получена мутация, представляющая ценность для зон аридного и галофитного кормопроизводства, а на амаранте белом - мутация, послужившая основой для создания нового зернового (лечебно-производственного) сорта Геркулесик.

Для кормопроизводства и медицины немаловажен вопрос повышения продуктивности с использованием специальных приемов, в том числе стимуляторов роста. На кормовых сортах Понтийский высокорослый, Донецкий 1 и зерновой линии ЛАЗ-86 установлено, что ПАБК в концентрации 0,005 и 0,001 % оказывает существенное влияние на рост и энергию прорастания семян, а также на сферу генеративной и вегетативной продуктивности.

Опыт по использованию нового поколения стимуляторов роста (получены от проф. А. В. Просяника из Днепропетровского химико-технологического института) показал, что их действие на семенную и вегетативную продуктивность амаранта избирательно зависит от сорта амаранта и вида стимулятора.

При интродукции амаранта в кормовое и лечебно-пищевое производство, в частности, с перспективой увеличения площадей под зерновым амарантом обращают внимание на особый состав фракции "сырого" жира. Как известно, гексановый экстракт ("сырой" жир), полученный из различных видов кормов, по составу может быть абсолютно не похожим на растительное масло. Фракция "сырого" жира, полученная из зерна амаранта, в значительной степени представлена эфирными маслами и скваленом. Сквален относится к груп-

пе симметрических алициклических терпенов с длинной углеродной цепочкой C₃₀. В гексановом экстракте может содержаться около 10 % сквалена. По мнению ряда биологов, амарантовое масло может широко использоваться в фармацевтическом производстве, так как по ряду позиций не уступает облепиховому.

По содержанию "сырого" жира популяции образцов зерна амаранта имели значительные различия. Минимальная концентрация (6,18 %) отмечена в сравнительно небольшой группе селекционных образцов Украинского института кормов (Л. С. Прокопенко, В. Д. Бугаев, Р. В. Олоничева) со серединой класса 6,25. К крайним левым трансгрессивным формам с пониженным содержанием "сырого" жира отнесены селекционные номера 111, сорт Атлант, отбор из ВИР-1. Максимальная концентрация "сырого" жира отмечена у сравнительно небольшой группы образцов коллекции ВИРа, зарегистрированных во временном каталоге под номерами 277, 279.

Продолжая селекционную работу с образцами, представлявшими крайнюю правую часть трансгрессивного ряда, можно отобрать формы, по содержанию "сырого" жира превышающие 8 % в расчете на сухое вещество. В то же время у отборов из сорта Геркулесик лечебно-пищевое амаранта и отдельных мутантов селекции отмечено варьирование содержания жира в зерне от 5,85 до 10,7 %. А у 12 различных генотипов амаранта, принадлежащих к видам каудатус, паникулатус, монтегастианус и гипохондриянус (работы Института физиологии и биофизики растений АН Республики Таджикистан), размах генотипической изменчивости содержания жира в

зерне составил величину от 6,0 до 10,5 %, что указывает на перспективность селекции по данному признаку.

Выведенный нами сорт амаранта Геркулесик зернового продовольственного направления, относящийся к разновидности амаранта белого получен методом трехкратного массового отбора метелок, лучших по семенной продуктивности и качеству зерна, в поликроссе мутанта белый крупяной.

Высота растения 125-141 см. Стебель прочный, прямостоячий, диаметром 3,5-4,5 см. Листовая пластинка удлинено-широкая. Метелка прямая, удлинено-комовая, светло-зеленая, длиной 38-46 см, шириной 10-14 см. Зерно среднего диаметра (до 1 мм), белое, полуокруглое, с полукрытой плотностью зерна в цветочной пленке. Масса 1000 семян 0,76-0,83 г.

За годы испытаний урожайность зерна составила 27,1-34,8 ц/га, зеленой массы - 407-498 ц/га.

Вегетационный период от всходов до хозяйственной спелости 116-118 дней.

Сорт рекомендован преимущественно для южных регионов СНГ, способен давать высокие урожаи зерна на орошении и в богарных условиях.

Сорт амаранта Гетерозисный 1 выведен нами методом свободного селективного переопыления 19 индивидуальных отборов и линий, полученных на сортах и гибридах с последующим массовым отбором высокорослых, мощных по вегетативной и семенной продуктивности растений пестрогибридного типа.

Высота растений 214-235 см. Стебель прямостоячий, прочный, диаметром 2,6-3,4 см. Лист широкий. Метелки от прямой до поникающей,

от светло-пурпурной до пурпурной, длиной 70-82 см, шириной 5,6-7,7 см, зерно мелкое, диаметром 1 мм, округлой формы и темной окраски, с закрыто-плотным заключением зерна в цветочную пленку. Масса 1000 семян 0,8-0,9 г.

За 1991-1999 г.г. урожайность зеленой массы составила 625-714 ц/га, семян - 19,8-21,4 ц/га. Содержание перевариваемого протеина 20,5 г в 1 кг зеленой массы, кормовых единиц 0,18-0,20.

Вегетационный период 110-117 дней.

Сорт высокопластичен. Рекомендуется для широкого географического распространения от районов северо-западной и центральной России до южных регионов СНГ.

Сорт амаранта Понтийский. Высокорослый выведен двукратным массовым улучшающим отбором высокорослых и с высокой вегетативной массой растений. Куст прямостоячий. Стебель прочный, диаметром 4,0-5,0 см, высота растения 280-308 см. Лист во время цветения широкий. Метелка прямая, светло-зеленая, длиной 40-50 и шириной 10-12 см. Зерно мелкое (до 1 мм), округлое, белое, закрытое. Масса 1000 семян 0,73-0,84 г.

Сорт Понтийский способен давать очень высокие урожаи зеленой массы - 527-780 ц/га, по данным испытания за 1987-1989 г.г. урожай семян составил 12,7-14,8 ц/га.

Кормовые достоинства зеленой массы высоки. Содержание лизина 8,5 мг / 1000 г, перевариваемого протеина 20-23 г в 1 кг зеленой массы.

Вегетационный период 123-127 дней.

Сорт устойчив к заморозкам, засухе и вымоканию. Рекомендуется

для преимущественного возделывания в южных районах.

Сорт передан на госсортоиспытание в 2001 году.

Сорт Донецкий 1. Выведен свободным переопылением пяти видов (приазовского дикого и культурно-дикого экотипов и трех культурных видов - багряного, аргентинского и зерно-кормового) с последующим массовым отбором высокорослых, мощных по вегетативной и семенной продуктивности растений пестрогибридного типа.

Растения высотой 218-225 см прямостоячие. Стебли прочные, диаметром 2,5-3,5 см. Листья широкие. Метелки от прямой до поникающей формы, от светло-зеленой до пурпурной окраски, длиной 65-80 и шириной 5,5-8,0 см. Метелки неломкие, среднеосыпаемые при созревании. Сорт имеет относительно выровненное созревание семян по длине метелки. Семена мелкие, диаметром до 1 мм, округлые, черные. Масса 1000 семян 0,86-0,96 г.

Сорт среднеранний, высокопродуктивный. Урожай зеленой массы 444-634 ц/га, урожай семян 17,5-19,5 ц/га. Содержание лизина 8,4 мг/1000 г, перевариваемого протеина 19-21 г и кормовых единиц 0,19-0,20 в 1 кг зеленой массы.

Сорт устойчив к заморозкам, засухе, вымоканию; высокопластичный, растет на всех типах почв. Практически не подвержен всем распространенным заболеваниям.

Сорт Донецкий 1 улучшенный подготовлен на госсортоиспытание (ГСИ) 2004 года.

Таким образом, результаты наших экспериментов свидетельствуют о возможности значительного повыше-

ния эколого-экономической эффективности внедрения амаранта как за счет его селекционно-генетического улучшения, так и путем усовершенствования технологий переработки растительного сырья, генетической идентификации утилитарных признаков, биохимической и фармацевтической идентификации конечной продукции.

Список литературы

1. Головин В. П., Бойцова А. В., Недилько Б. А. Амарант: состояние изученности, селекционного улучшения и использования: Тр. VIII Междунар. Симпоз. "Нетрадиционное растениеводство, экология и здоровье" (Симферополь-Алушта, 9-19 сентября 1999 г.) - Симферополь. - 1997. - С. 227-235
2. Головин В. П. и др. Селекция новых форм амарантовых: амарант лечебно-пищевой, овощной и эрва шерстистая: Материалы VI Междунар. науч.-производ. конф. "Нетрадиционное растениеводство, экология и здоровье" (Симферополь-Алушта, 8-14 сентября 1997 г.) - Симферополь. - 1999. - С. 171-173.
3. Костин В. И., Офицеров Е. Н., Исайчев В. А. и др. Использование пектина амаранта для регуляции адаптивных реакций растений озимой пшеницы и гороха к неблагоприятным факторам среды: Материалы III Междунар. симпоз. "Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования" (Москва - Пущино, 21-25 июня 1999 г.) - Москва. - 1999. - С. 75.

Представлено А. А. Корчинським
Надійшла 21.02.2004 р.

ФІЗИОЛОГО-БОТАНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ,
ІНТРОДУКЦІЯ, СЕЛЕКЦІЯ І ВИКОРИСТАННЯ
АМАРАНТА

В. П. Головін, В. В. Волкодав¹

Кримський інститут нетрадиційного
рослинництва, екології і здоров'я,
Україна, АР Крим, 95017, м. Сімферополь,
вул. Київська, 67/2, к. 3
факс: 8-0652-27-41-18; тел. 515-378.

¹Державна служба з охорони прав на сорти рослин,
Україна, 03041, м. Київ,
вул. Генерала Родімцева, 15;
e-mail: sops@sops.gov.ua

З нових нетрадиційних видів рослин амарант потрібно віднести до числа найбільш перспективних культур різнопланового використання, як культур різнопланового використання, як культури високої толерантності, урожайності, унікального складу незамінних кислот. Амарант - рідкісна кладова білка.

Перспективи використання амаранта будуть приростати по мірі досягнення інтродукції, селекції, технологій вирощування і переробки.

Ключові слова: амарант, сорт, урожай, білок, гібрид, популяція, масло.

PHYSIOLOGICAL AND BOTANICAL CHARACTERISTICS, INTRODUCTION, SELECTION AND UTILIZATION OF AMARANTH

*V. P. Golovin, V. V. Volkodav*¹

State Service on Right Protection
for Plant Varieties
Ukraine, 03041, Kyiv, 15,
Henerala Rodimtseva str
E-mail: sops@sops.gov.ua

¹Crimean Institute of non-traditional planting,
ecology and health.
Ukraine, Crimea, 95017, Symferopol, 67/2,
Kyevskaaya str., kv. 3
Fax: (8-0652) 27-41-18, tel.: (8-0652) 51-53-78

Amaranth should be consider as most perspective crops of all-round using, crops of high tolerance, productivity and unique structure of essential amino acids, that are the rare store-room of protein among the new non-traditional plant species.

As far as introduction, selection, plant grows technologies and processing are developed, the perspectives of using of the amaranth will increase.

Key words: amaranth, variety, yield, protein, hybrid, population, oil.

УДК 579 253 + 581 2

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ НЕСТАБИЛЬНОСТЬ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КАК ОСНОВА АДАПТАЦИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ К ИЗМЕНЕНИЯМ УСЛОВИЙ СУЩЕСТВОВАНИЯ

Ю. В. ШИЛИНА

Институт клеточной биологии и генетической инженерии НАН Украины,
Украина Киев 03143 ул Академика З бол тно о 148
e-mail: icbge_shlina@yahoo.com

Обзор посвящен проблеме спонтанной и индуцированной генетической нестабильности фитопатогенных бактерий. Представлены данные, свидетельствующие о том, что бактериям свойственна значительная генетическая и эпигенетическая нестабильность, обусловленная структурно-функциональными особенностями их геномов (наличие повторяющихся последовательностей, транспозонов и др.). Предполагается, что в определенных условиях при воздействии стрессовых факторов возможна модификация уровня изменчивости у бактерий, которая может сопровождаться изменением патогенности, вирулентности и агрессивности. Спонтанную и индуцированную нестабильность генома бактерий можно рассматривать в качестве одного из механизмов адаптации.

Ключевые слова: фитопатогенные бактерии, генетическая нестабильность, эпигенетическая изменчивость, адаптация, ионизирующее излучение.

Актуальность изучения свойств фитопатогенных бактерий связана прежде всего с их способностью вызывать свыше 200 экономически важных заболеваний у многих растений, нанося значительный ущерб сельскохозяйственному производству [1, 2]. Первоочередное значение имеет проблема быстрой утраты новыми сортами устойчивости к патогенным микроорганизмам и постоянное появление новых форм фитопатогенов. Гены устойчивости растений (R-гены) обеспечивают эффективную защиту от патогенов, которые экспрессируют соответствующие гены авирулентности (avr-гены), но в условиях сельскохозяйственного производства эта защита обычно является кратковременной, поскольку патогены часто модифицируют или утрачивают avr-гены, изменяя генетическую структуру своих популяций в ответ на появление новых сортов и приобретая способность вызывать

заболевания у ранее устойчивых форм растений [3, 4]. Периодически отмечается появление новых заболеваний, повышение патогенности и вирулентности известных возбудителей и приобретение патогенности видами, которые были известны как сапрофиты [5, 6]. Возрастание интенсивности миграционных процессов приводит к увеличению распространения нехарактерных для определенных регионов возбудителей, к которым отсутствует адаптация, и повышению вероятности рекомбинационных процессов, в результате которых возможно формирование гибридных геномов, что приводит к скачкообразным изменениям свойств возбудителей заболеваний [7, 8].

Значительную проблему составляет существование природных резервуаров возбудителей заболеваний растений. Фитопатогенные бактерии (*Pseudomonas syringae*, *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora*) могут существовать как эпифиты на поверхности листьев растений, в ризосфере и латентно в растительных тканях на протяжении многих генераций, не вызывая у растений появления видимых симптомов заболевания [2, 3, 9, 10]. Разные изоляты *P. syringae*, *E. amylovora*, *Xantomonas campestris*, *Ralstonia solanacearum* обнаруживались в эпифитной фазе как на растениях-хозяевах, так и на сорняках, которые встречались в их посевах [9, 11, 12]. Кроме того, многие фитопатогенные бактерии могут сохраняться в растительных остатках и почве, возможно, с переходом в некультивируемое состояние, распространяться с поливными водами [11-14].

Со способностью использовать организм неспецифических хозяев

связана проблема полибиотрофии бактерий - способности использовать в качестве хозяев организмы как растений, так и животных [15, 16]. Из организмов больных людей и животных были выделены фитопатогенные бактерии, относящиеся к *Erwinia* spp. (*E. carotovora*, *E. atroseptica*, *E. aroidae* и *E. chrysantemi*), *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas* (*P. aeruginosa*, *P. maltophilia*, *P. fluorescens*, *P. putida*) [15, 17]. Бактерии родов *Yersinia*, *Listeria*, *Salmonella* [18], *KLebsiella* [19], а также *E. coli* [20], широко распространены во внешней среде и выявляются на растительных субстратах, где они могут выживать и размножаться, вызывая повреждения растительных клеток и индуцируя некротическую реакцию, сходную с реакцией сверхчувствительности.

Возможность приспособления популяций организмов к различным условиям среды обитания обеспечивается благодаря их полиморфизму и генетической гетерогенности, что позволяет популяциям бактерий существовать в изменяющихся условиях среды. Главной причиной гетерогенности популяций считают нестабильность геномов, которая обеспечивает их адаптацию к разным условиям существования и создает резерв наследственной изменчивости, что может иметь решающее значение для выживания популяции патогенов в новых условиях, при действии экстремальных факторов, освоении новых экологических ниш [21-23]. Генетическая нестабильность проявляется в повышении вероятности мутационных изменений с увеличением клоновой гетерогенности, для нее характерно образование точковых мутаций, особенно затрагивающих регу-

ляторные гены, повышение частоты рекомбинационных событий (в частности, сестринских хроматидных обменов), амплификация генов, изменение характера генной экспрессии [24].

Выделяют спонтанную и индуцированную генетическую нестабильность. Известно, что мутации могут возникать не сразу после воздействия стресс-фактора, а после десятков циклов репликации (реплицирующаяся нестабильность) [25]. По некоторым данным до половины всех мутаций может проявляться в форме реплицирующейся нестабильности [25].

Целью данного обзора является рассмотрение механизмов генетической нестабильности фитопатогенных бактерий, а также роли генетической нестабильности и эпигенетической изменчивости в адаптации бактериальных популяций к различным условиям существования и действию стрессовых факторов, включая антропогенные воздействия.

Рекомбинационные перестройки генома бактерий. Генетическая рекомбинация во всем многообразии ее форм и механизмов является главным фактором непостоянства генома, благодаря которому возможна эффективная адаптация бактерий к различным условиям существования, которая может сопровождаться быстрым появлением новых штаммов и даже видов возбудителей заболеваний [8, 26, 27].

У бактерий возможны все формы генетической рекомбинации - гомологичная (при участии белка *recA*), незаконная (с участием ДНК-топоизомераз и мобильных генетических элементов (МГЭ)) и сайт-специфическая (осуществляется ферментами

рекомбиназами - резолвазами/инвертазами и λ -интегразами, возможно также участие продуктов генов *recA*, *recBC*, *recF*, *himA*) [23, 28, 29]. Во многих случаях рекомбинация у бактерий проявляет черты сайт-специфичности, т.е. избирательности по отношению к специфическим нуклеотидным последовательностям, которым не обязательно свойственна гомология [26]. Механизм сайт-специфической рекомбинации используется для осуществления различных биологических функций, в частности, для переключения генов между альтернативными системами, которые часто контролируют синтез компонентов клеточной поверхности бактерий (белков, липополисахаридов) [23, 28, 30-32]. У бактерий в ДНК обнаружены Chi-сайты, для которых характерна повышенная частота рекомбинации, осуществляемой системой *RecA-RecBC*, с объединением нуклеотидных последовательностей разных генов [26, 28, 31, 32]. Аналогичные последовательности обеспечивают вариабельность молекул иммуноглобулинов у животных [26, 28]. Переключение синтеза может происходить благодаря изменению ориентации (инверсии) промотора между структурными генами, соединению переменных С-концевых частей гена с консервативной N-концевой областью, расположенной за пределами инвертированного сегмента [30, 31].

У фитопатогенных бактерий даже довольно редкие события рекомбинации, особенно если они детерминируются растениями-хозяевами (в т.ч. опосредовано), могут быть причиной появления новых штаммов с измененной специфичностью к хозяину или повышенной вирулентностью, спо-

собных занимать новые экологические ниши [3, 8].

Рекомбинационные события часто связаны с повторяющимися последовательностями ДНК, которые диспергированы в геноме бактерий, и могут выступать в качестве своего рода "горячих точек" для рекомбинационных событий, обуславливая внутривидовую фенотипическую и генетическую гетерогенность микроорганизмов, способствующую их выживанию и адаптации. Известно, что генетический полиморфизм может обуславливаться разным числом tandemных повторов в гипервариабельных участках хромосом [33]. В этих случаях скорость мутирования выше, чем образования точковых мутаций, на четыре порядка [33].

Повторяющиеся последовательности ДНК. Первичные детерминанты, лежащие в основе перестройки структуры хромосомы - повторяющиеся последовательности ДНК - описаны как у прокариот, так и у эукариот. Например, в геноме *E. coli* идентифицировано до 25 гипервариабельных минисателлитных последовательностей, аналогичные маркеры найдены практически у всех исследованных прокариот [34]. Для мини- (15-70 пн), микро- (1-10 пн) и макросателлитов (100-300 пн) - простых tandemно повторяемых нуклеотидных последовательностей, которые распределены по всему геному, характерен высокий уровень естественной вариабельности и повышенная частота мутаций [24, 26, 32].

Повторяющиеся последовательности ДНК обуславливают изменения за счет рекомбинации (зависимой и независимой от RecA), ошибок полимеразы, репарационных процессов,

облегчают возникновение инверсий, делеций, дупликаций (обычно с последующей амплификацией подчас протяженных регионов генома бактерий), транслокаций сегментов ДНК, благодаря чему изменяется уровень экспрессии различных генов, что у бактерий часто носит приспособительный характер и является ответом на различные повреждающие воздействия, например, при развитии защитных реакций организма-хозяина [21, 26, 35-38].

Полагают, что в геноме микроорганизмов осуществляется закрепление определенных частот и направленности изменчивости, в частности, за счет изменения структуры повторов в активных областях генома микроорганизмов, требующих эффективной и мобильной регуляции, в частности, генах вирулентности и токсигенности [23, 39, 40]. Повторяющиеся элементы могут встречаться в кодирующих участках структурных генов и в регуляторных регионах, что определяет уровень регуляции и обеспечивает формирование репертуара потенциальной генетической вариабельности, который позволяет микроорганизмам перестраивать собственный кодирующий потенциал постоянно, за счет работы быстрых фенотипических переключателей [21, 39, 40]. Повторяющиеся короткие нуклеотидные последовательности обнаружены в генах, продукты которых обеспечивают модификацию поверхностных структур бактериальных клеток, в частности, генах ферментов синтеза и модификации липополисахарида [21, 28, 37-40].

Согласно гипотезе Флора, делеция или другая мутация гена авирулентности фенотипически выра-

жаются как вирулентность [41]. Одним из возможных механизмов приобретения вирулентности является делетирование в процессе репликации повторяющихся последовательностей, обнаруженных во внутренних областях многих *avr*-генов [41]. У 20 штаммов бактерий *X. campestris pv. vesicatoria*, выделенных в полевых условиях и вызывающих заболевание у растений перца Bs2, были обнаружены молекулярные повреждения гена *avrBs2* [4]. Идентифицировано четыре мутантных аллеля *avrBs2*, из которых два имели инсерции или делеции 5 нуклеотидов в повторяющемся регионе *avrBs2*, а двое других характеризовались точечными мутациями, приводящими к единичной аминокислотной замене в белке *AvrBs2* [4]. Показано, что детерминанты *avr* могут эволюционировать в направлении уменьшения их распознавания соответствующими генами устойчивости растений при сохранении вирулентных функций [4].

Повторяющиеся последовательности играют важную роль в различных генетических перестройках как внутри бактериальных хромосом, так и с участием внехромосомных генетических элементов. Обнаруженная у некоторых фитопатогенных бактерий гомология между хромосомной и плазмидной ДНК может обуславливаться наличием в их составе идентичных инсерционных последовательностей, облегчающих генетический обмен между разными репликонами [1]. Показано, что плаزمид В *P. syringae pv. tomato* содержит ген авирулентности *avrD*, ограниченный короткими последовательностями повторов [42]. Ген *mis*, повышающий уровень мутагенеза у бактериальных

клеток, в плазмиде рКМ101 также фланкирован инвертированными повторами, что увеличивает его мобилизацию [23]. Таким образом, у фитопатогенных бактерий возможна локализация инсерционных повторяющихся последовательностей в локусах, связанных с патогенностью и адаптацией, что вследствие их высокой изменчивости может способствовать возникновению новых форм фитопатогенных бактерий.

Анализ геномов филогенетически отдаленных организмов (нематоды *Caenorhabditis elegans*, насекомого *Drosophila melanogaster*, высшего цветкового растения *Arabidopsis thaliana*, дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и человека) показал, что большинство повторяющихся последовательностей ДНК у разных организмов представлено активными или дегенеративными копиями транспозонов [43]. Установлено, что в хромосоме бактерий многие гены входят в состав транспозоноподобных структур, в которых гены окружены инвертированными повторами определенной протяженности [35]. На 5'-конце фланкирующего региона гена пектинлиазы *rpl* *E. carotovora Er* показано наличие двух пар инвертированных повторов, находящихся между сайтом связывания рибосом и боксом Прибноу [44]. Исследования региона *Er* на хромосоме штамма *E. carotovora subsp. carotovora Er* показали существование системы инверсий ДНК для последовательности, кодирующей каротовороцин, сходный по структуре с фаговым отростком. Внутри этой последовательности и за геном хвостового отростка, фланкированным 790-пн фрагментом, находились два 26-пн инвертированных повтора, а

также ген инвертазы с 90-пн рекомбинантной энхансерной последовательностью [45]. Обнаруженная инверсия ДНК изменяет С-терминальную часть белка каротовороцина *Er*, в результате чего образуется два его типа *Era* и *Erb*, отличающиеся специфичностью по отношению к хозяину [45].

Внехромосомные генетические элементы, внося большой вклад в непостоянство геномов у бактерий, во многих случаях составляют генетическую основу процессов адаптации бактерий к условиям окружающей среды. К ним относят МГЭ (IS-, Тп-элементы, транспозоноподобные фаги), а также плазмиды и умеренные бактериофаги [5, 8, 22]. Фаги могут захватывать и переносить участки разных генов как самостоятельно, так и в составе гибридных плазмид и, как полагают, в геномах фагов могут оказаться практически любые гены [5]. С внехромосомными факторами бактерий часто связаны системы рестрикции-модификации, которые могут также самостоятельно выступать в качестве МГЭ и вызывать геномные перестройки [46]. Возможна обратимая интеграция внехромосомных генетических элементов в различные сайты бактериальных хромосом, что вызывает модуляции вирулентности на клеточном и популяционном уровнях и является одной из причин генетической нестабильности [22] и "стимулированной изменчивости" [23].

МГЭ. С МГЭ, которые вызывают в геномах ряд физических перестановок и регуляторных изменений, связано много примеров нестабильности геномов бактерий [21, 26]. Эти элементы способны вызывать генные мутации и хромосомные перестройки всех типов (слияние репликонов,

делеции, инверсии, дупликации и амплификации, транслокации), приводящие к изменению экспрессии генов [26, 30, 43]. Встраиваясь в структурные или регуляторные генные последовательности, транспозоны обратимо или необратимо инактивируют их, при встраивании перед генами нарушают их регуляцию - гены репрессируются, активируются, становятся конститутивными [26]. У расы 2 *Xanthomonas vesicatoria*, авирулентной к сортам перца, имеющим ген устойчивости *Bs1*, часто возникают спонтанные мутанты с разной степенью вирулентности, у которых в *avr*-локусе обнаружена инсерция IS 476 (1,2 тпн) в регуляторной области (слабая вирулентность) или структурной области гена (высокая вирулентность) [41].

Генетические перестройки могут происходить благодаря гомологичной рекомбинации между многочисленными копиями МГЭ и в результате механизма альтернативной транспозиции с участием комплементарных концов разных молекул транспозонов [30, 43]. У бактерий описано два механизма транспозиций МГЭ: репликативный, сопряженный с локальной репликацией, когда в новый сайт переносится копия соответствующего IS- или Тп-элемента (I класс транспозонов), и консервативный с вырезанием МГЭ из донорного сайта и его последующим внедрением в новый с образованием в донорном репликоне двунитевого разрыва ДНК (II класс транспозонов) [30]. Образование и репарация двухнитевых разрывов, образующихся при вырезании гибридного элемента при альтернативной транспозиции аналогична процессам при V(J)D-рекомбинации, обес-

печивающим сборку молекул иммуноглобулинов и рецепторов Т-лимфоцитов, с образованием шпилечных промежуточных структур и палиндромов на концах [30, 43]. Палиндромные последовательности являются дополнительным источником вариабельности [43]. Ряд транспозонов способен использовать, по-видимому, оба способа перемещений в зависимости от условий. Как правило, каждый тип МГЭ встречается в геноме многократно, т.е. элементы образуют семейства диспергированных повторов, которые благоприятствуют дальнейшим геномным перестройкам [37, 43].

У бактерий, как и у высших эукариот, выявлена интрон-экзонная структура генома и предполагается, что до 25 % ДНК бактериальной хромосомы приходится на межгенные интервалы или нетранслируемые регуляторные области [35, 43]. Для бактерий невыгодна транспозиция в т.н. существенные области генома, являющиеся наиболее консервативными и отвечающие за основные функции их жизнедеятельности (питание, дыхание, рост, деление, синтез структурных белков и ферментов основного метаболизма), и предпочтительна в несущественные локусы [30]. Такая относительная стабильность с малой вероятностью крупных функционально значимых изменений существенного генома свойственна большинству организмов [47]. Так называемые адаптивные мутации, повышающие приспособленность бактерий к действию различных факторов, в основном затрагивают несущественный геном, определяющий непосредственно экологические характеристики данного вида [47]. Показано, что

у растений инвертированные повторы, для которых характерны высокая степень изменчивости и распределение по всему геному, в стрессовых условиях (в частности, при введении растительных клеток в культуру) подвергаются существенным перестройкам неслучайного характера, затрагивающим прежде всего последовательности, определяющие межвидовые отличия [48]. Большинство геномов растений содержит значительное количество МГЭ или последовательностей, являющихся их производными, влияние которых на растения имеет характер мутаций, и одним из примеров являются мутации R-генов растений, вызванные инсерциями МГЭ [49, 51]. Известно, что гены устойчивости мутируют с высокой частотой. Например, после γ -облучения выявлено 2,3 % устойчивых к мучнистой росе мутантов ячменя (в контроле - 0,7 %), 2,7 % устойчивых к ржавчине мутантов льна, 0,15 % устойчивых к перикоуляриозу мутантов риса [41]. Основными механизмами возникновения спонтанных мутаций R-генов являются генные конверсии, неравный кроссинговер, транспозонный мутагенез [41]. Гены устойчивости растений часто образуют кластеры и их локусы состоят из тандемно дублированных генов, формирующихся вследствие внутри или межгенных обменов участками ДНК (эктопической рекомбинации), обусловленными наличием внутри или по краям генов прямых и обратных повторов, что приводит к неравному кроссинговеру [41]. С-концевой участок R-белков растений может содержать большое число повторяющихся последовательностей (из 23-24 аминокислот) с высоким содержанием лейцина (LRR

- leicin rich lipid) и выполняет функции рецептора, связывающегося с элиситорами фитопатогена [41]. Эти процессы вероятно и обеспечивают один из основных механизмов защиты растений от стрессовых факторов (в том числе патогенов) - высокую пластичность генома растений [49], а также множественность и полиморфизм генов устойчивости растений в природных популяциях [50]. Аналогичные механизмы видимо действуют и в популяциях фитопатогенных микроорганизмов, обеспечивая быстрые изменения их генов вирулентности и авирулентности, которые могут в какой-то степени даже стимулироваться под воздействием стрессовых факторов с определенными характеристиками.

МГЭ обеспечивают объединение негомологичных сегментов ДНК, что приводит к образованию рекомбинантных структур и является одной из форм генетического обмена. Установлено сегментарное строение бактериальных хромосом, плазмид и мозаичная структура некоторых генов (оперонов) [29, 52]. В плаزمидах фитопатогенных бактерий найдены ряд IS-элементов, ограниченных инвертированными повторами, которые могут инактивировать гены *avr* и *vir*, изменяя специфичность патогенов, и служить потенциальными сайтами гомологии для интеграции и эксцизии плазмид [3]. В плазмиде рЕА34 стрептомицин-резистентного штамма *E. amylovora* CA11 выявлен транспозон Tn5393 с генами стрептомицинрезистентности *strA* и *strB*, который способен перемещаться в разные сайты плазмид рGEM3Zf(+) и рUCD800 с образованием дубликаций 5 пн в их ДНК [53].

"Острова патогенности". Горизонтальный перенос способствует распространению целых блоков ДНК, содержащих гены патогенности [7, 29]. Эти так называемые "острова патогенности" выявляются в составе хромосом и плазмид вирулентных штаммов микроорганизмов, часто связаны с МГЭ, профагами, имеют на концах прямые повторы или могут быть фланкированы IS-элементами [5, 29, 30, 40, 54].

Плаزمид (154 тпн) *P. syringae* pv. *phaseolicola* 1449B содержала гены авирулентности *avr* (*avr D*, *avr PphC*, *avr PphF*) и последовательности, гомологичные IS100 *Yersinia* и Tn501 *P. aeruginosa* [55, 56]. Различия в количественном содержании пар Г:Ц в плазмиде и хромосоме *P. syringae* pv. *phaseolicola* 1449B и сходство некоторых генных последовательностей *avr* и *vir* с МГЭ указывают на наличие плазмидного "острова патогенности", эквивалентного найденным у патогенов животных [55, 56]. Хромосомный "остров патогенности" был обнаружен и у фитопатогенных *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* [3].

Между патогенными бактериями и родственными им сапрофитными бактериями существует достаточно активный горизонтальный перенос генов с участием умеренных фагов, плазмид и МГЭ, приводящий к возникновению новых возбудителей [5, 23, 29]. Полагают, что в природных условиях возможен перенос генов между прокариотами и эукариотами, который особенно вероятен между симбионтами или паразитами и их хозяевами [5, 29]. Следует предположить, что МГЭ могут играть определенную роль во взаимодействиях бактерий с растениями-хозяевами. У рас-

тений показано накопление в их геномах некоторых транспозонов в ответ на внедрение патогенов и воздействие их элиситоров [43]. Ген эндополигалактоураназы *rehA*, обнаруженный у фитопатогенного штамма *B. serasia ATCC45416* в составе плазмиды pPEC320 (200 тпн), который проявлял сходство с генами *rehA* у *E. carotovora* и *R. solanacearum*, а также полигалактоураназной последовательностью высшего растения *Lycopersicon esculentum* детерминировал способность к мацерации тканей лука у фитопатогенных и клинических штаммов [3, 57]. Относительная простота превращения некоторых транспозонов эукариот (в частности, типа *marginer*) в транспозоны, осуществляющие генные перестройки в бактериальных геномах, может служить объяснением захвата генов эукариот крупными фагами [5]. Еще один канал для захвата бактериофагами генов высших организмов - через плазмиды, которые могут передаваться и в клетки высших организмов [5].

Плазмиды. Клетки многих штаммов фитопатогенных бактерий родов *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Pantoea*, *Burkholderia*, *Ralstonia*, *Xanthomonas* содержат плазмиды, молекулярные размеры которых находятся в диапазоне от 3.8 до 200-750 тпн [1, 58, 59]. Плазмиды фитопатогенных бактерий могут автономно существовать в бактериальной клетке, некоторые способны встраиваться в бактериальную хромосому (эписомы) [1, 3]. Интеграция и вырезание плазмид, например, pMMC7105 у *P. syringae* pv. *phaseolicola*, может осуществляться путем гомологичной рекомбинации между повторяющимися последовательностями [1]. На участие в процессах

инцизии *RecA*-системы указывает стимуляция интеграции в хромосому плазмид обработкой одним из ее индукторов - митомицином С [1]. Выщепление плазмид может приводить к образованию делеционных производных [1].

Повышение изменчивости бактерий с участием плазмид связано с их кодирующей и регуляторной функцией (интегративная супрессия, наличие генов-мутаторов). Наличие плазмид может быть связано с патогенностью и специфичностью по отношению к определенным хозяевам [1, 3, 55, 57, 61]. Плазмиды могут детерминировать синтез токсинов (например, коронатина у патогенов *P. syringae* и *P. savastanoi*), фитогормонов (индолилуксусной кислоты, цитокинина, этилена), элиситоров (сиринголидов), экзополисахаридов, ферментов (эндополигалактоураназы, эндоглюканазы и др.), антибиотикоустойчивость, устойчивость к бактериоцинам, тяжелым металлам, УФ, образование кристаллов льда, повреждающих клетки растений-хозяев, определять вирулентность и авирулентность бактерий (гены авирулентности *avr*, гены *hrp*, кодирующие компоненты системы секреции типа III), а также осуществлять функции регуляции экспрессии хромосомных генов [1, 3, 57, 60]. У фитопатогенных бактерий обнаружены также криптические плазмиды, функции которых невыяснены [3]. Предполагается, что криптические плазмиды, которые обнаруживаются у 50 % всех известных бактерий, могут участвовать в создании нестабильности по хромосомным генам в неблагоприятных условиях среды [23].

Установлено, что некоторые плазмиды могут повышать устойчивость

бактерий к действию стрессовых факторов окружающей среды (УФ, ионизирующему излучению, химическим токсикантам и др.), что может сопровождаться повышением уровней спонтанного и индуцированного мутагенеза. Повышение устойчивости отмечали у бактериальных клеток, несущих некоторые R-, Col-плазмиды, F-факторы [23, 62-64]. Плазмида R46 и ее делеционная производная рKM101 (маркер *Arg*) увеличивали резистентность бактерий к УФ, повышали их спонтанную и индуцированную мутабельность, в ряде ситуаций повышали выживаемость при действии γ -излучения и стимулировали γ -индуцированный мутагенез [62, 65, 66]. Установлена возможность горизонтальной передачи плазмид RP4 (*IncP*), R391 (*IncJ*), рKM101 (*IncN*) в некоторые штаммы *E. carotovora* и *R. solanacearum* и показано их наследование в качестве внехромосомной ДНК в клетках эрвиний [67, 68].

Повышение уровня генетической нестабильности у бактерий с участием плазмид может обуславливаться наличием в составе плазмидных геномов некоторых генов-мутаторов, увеличивающих частоту мутирования клеток и функции которых, как правило, связаны с контролем процессов репликации и репарации ДНК (*rec A*, *lex A*, *uvr A*, *uvr B*, *uvr C*, *mut T*, *mut L* и др.) [23]. Установлено, что плазмида рKM101 кодирует гены *musAB*, аналогичные хромосомным генам *umu CD* системы SOS-репарации у *E. coli K-12* [62, 65]. Плазмидные детерминанты резистентности *gulAB*, гомологичные оперону *umuDC* у *E. coli*, идентифицированы у штаммов и патоваров *P. syringae*, выделенных из разных растений [3, 64, 69]. Показано, что при-

родная плазмида рPSR1, несущая детерминанту *gulAB*, увеличивала выживаемость бактерий *P. syringae* при облучении УФ-Б [69]. В большинстве случаев детерминанты *gulAB* локализуются на плазмидах типа рРТ23А, которые могут нести также детерминанты, важные для взаимодействия хозяин-патоген [69]. Кроме того, гены *gulAB* рассматривают в качестве мобильных регионов потенциальной гомологии ("горячих точек") для обмена генов *avr* и *vir* [3]. Показано значение детерминанты *gulAB* для выживания и увеличения размеров популяции бактерий на поверхности листьев растений, а также для развития инфекционного процесса у растений [64]. По-видимому, гены *gulAB* имеют важное значение для выживания *P. syringae* в филосфере и их широкое распространение среди разных генотипов указывает на экологическое значение мутагенной репарации, в частности, для выживания при воздействии солнечной радиации [64]. Таким образом, патогенность может быть связана не только с образованием специфических факторов патогенности, но и увеличением способности к выживанию в определенных условиях и повышенной устойчивостью к некоторым стрессовым факторам. Внехромосомные генетические элементы осуществляют значительный вклад в процессы, связанные с экспрессией факторов патогенности у бактерий, повышая их адаптационные способности.

Изменения эпигенотипа бактерий. Эпигенетическая изменчивость представляет собой воспроизводимое в ряду клеточных поколений изменение эпигенотипа (спектра функционирующих генов), имеет нас-

ледственный характер, как правило, не связана с изменением первичной структуры ДНК и может проявляться в массовом порядке с однотипными изменениями фенотипа у всех членов популяции, несущих определенные гены [70]. У бактерий наблюдали вспышки неклональной (несводимой к мутациям) изменчивости, охватывающей часть клеток в популяции, которую объясняли избирательной экспрессией некоторых генов [71].

Модификации спектра активных генов могут обуславливаться как прямым действием разных факторов на высшие уровни организации ДНК, так и опосредоваться через влияние на уровень первичной структуры ДНК [70]. Возможны обратимые перестройки первичной структуры ДНК (на уровне последовательности нуклеотидов) и высших уровней структурной организации ДНК (изменение степени спирализации молекулы ДНК, ее конформации, метилированием ДНК в определенных локусах, взаимодействия со специфическими белками). Уровень организации генетического аппарата, на котором происходит контроль экспрессии соответствующих генов определяется структурными характеристиками этих генов а также спецификой и дозами действующих на клетки стресс-факторов. Регуляция генной активности через модификации первичной структуры ДНК возможна через системы рекомбинации, перемещения МГЭ инверсии, транспозиции [26, 30-38]. Некоторые типы рекомбиногенных перестроек генома бактерий являются обратимыми и имеют массовый характер как опосредованный ответ на внешние сигналы, способствуя быстрому приспособлению популяций бактерий

к неблагоприятным воздействиям факторов среды [28]. Например способность микроорганизмов к быстрой смене поверхностных антигенов позволяет предотвратить распознавание защитными системами организма хозяина и обеспечить иммунную толерантность. Было высказано предположение о существовании специальных промоторов или сайтов связывания активатор в транскрипции в нетранслируемых участках МГЭ и активации регуляторных сайтов и промоторных областей с повышением уровня транскрипции под воздействием разнообразных внешних и внутренних стрессовых факторов со стимуляцией массовых эксцизии и транспозиции МГЭ [30, 43, 72, 73].

Изменения ДНК, связанные с ее транскрипционной активностью осуществляются, как правило на уровне отдельных сегментов и локусов ДНК с изменением их конформации (топологии ДНК) метилированием ДНК взаимодействия с регуляторами транскрипции (активаторами репрессорами и др.) функциональной активности белков участвующих в транскрипции ДНК экспрессии соответствующих σ -субъединиц комплекса РНК-полимеразы может контролироваться через функционирование клеточных мембран и систем сигнальной трансдукции (цАМФ и др.). Одним из сигналов изменения генной экспрессии у бактерий следует считать генерацию активных форм кислорода (АФК) прежде всего H_2O_2 и O_2 , которые образуются как клетками растений при контакте с патогеном, так и самими бактериями в условиях стресса вследствие изменения у них свойств мембран и функционирования дыхательной цепи [74]. АФК могут

оказывать не только повреждающее воздействие на патогены, но и выполнять роль сигналов, индуцирующих у них изменения эпигенотипа, как через прямые повреждения ДНК и изменение ее конформации, так и через клеточные системы трансдукции сигналов [75, 76]. Установлено, что экспрессия генов вирулентности может активироваться комплексом экзогенных стрессоров среди которых, кроме АФК, температурный фактор, рН, лимит железа и др. [76]. У бактерий из-за высокой численности их популяций и малой продолжительности периода генерации не всегда удается сразу четко разграничить эффекты, обусловленные генетическими или эпигенетическими механизмами и выяснение этого вопроса часто требует проведения дополнительных тестов.

Воздействие стрессорных факторов на эпигенотип бактерий и уровень генетической нестабильности может опосредоваться через системы глобальных регуляторных функций, прежде всего, систему SOS-ответа клетки.

Роль SOS-ответа и систем репарации ДНК в адаптационных перестройках бактериального генома. SOS-ответ является глобальным ответом клетки на повреждение ДНК, прототи-пом контроля клеточного цикла в сверхочных точках и системы репарации ДНК [24].

Показана связь патогенности с функционированием локуса *hcsA* у *Vibrio cholerae* (биотипы *classical* и *El Tor*) [77], энтерогеморагенных *E. coli* O157:H7 [78], *Salmonella* [79], *Porphyromonas gingivalis* [80]. Вирулентность фитопатогенных бактерий *X. campestris* pv. *campestris* штаммов NRRL и B1459 по отношению к расте-

ниям капусты значительно снижалась у *hcsA*-мутантов, у которых также ослаблялась способность к гомологичной рекомбинации и репарации ДНК, повышалась чувствительность к действию метилметансульфоната и УФ [81].

У различных патогенов выработались разноуровневые системы SOS-опосредованной регуляции экспрессии генов вирулентности (через изменение первичной структуры ДНК с участием *RecA*-зависимой рекомбинации, регуляция белком *RecA* факторов транскрипции). Установлено участие белка *RecA* в позитивной регуляции синтеза бактериоцинов у *E. coli* [85], *P. aeruginosa* [82], ризосферных и клинических штаммов *P. serasia* [83], пектинлиазы, каротовороцина у *E. carotovora* subsp. *carotovora* [84]. Образование пектинлиазы (протопектиназы, основного фермента мацерации тканей, наличие которого у фитопатогенных бактерий обычно коррелирует с вирулентностью) у *E. carotovora* осуществляется *RecA*-зависимым регулятором транскрипции генов *Rdg*, который индуцируется при действии на клетки бактерий факторов, повреждающих ДНК или подавляющих ее синтез (митомицин С) [84]. Стимуляция синтеза пектинлиазы в ответ на повреждающее воздействие при контакте с хозяином может иметь важное значение для фитопатогенных бактерий, поскольку установлено, что пектолитические ферменты патогенов препятствуют быстрой гибели растительных клеток и развитию защитных реакций: высокоочищенная пектиназа ингибировала реакцию сверхчувствительности, индуцированную *P. syringae* в листьях табака [86].

Повышение уровня мутагенной репарации имеет место в период становления инфекции и определяет относительную приспособленность бактерий во время колонизации и становления инфекции у растений [64]. Полагают, что репарация ДНК является необходимой для полной вирулентности патогенов и защиты от АФК, образующихся при окислительном взрыве фагоцитами, имея даже более важное значение, чем активность в клетках патогенов антиоксидантных ферментов (каталазы) [79]. В то же время показано, что у ряда патогенных микроорганизмов слабо развиты конститутивная и индуцированная мутагенная репарация, а стимулированная изменчивость является результатом локальных изменений хромосомы в активных сайтах ДНК, что позволяет сохранить сбалансированный генотип [22, 23]. Такие изменения часто осуществляются путем инверсий, а, как известно, действие инверсий ограничивает кроссинговер (рекомбинацию) и как бы "запирает" изменчивость определенных участков хромосом [87]. Отсутствие генерализованного и сайт-специфического SOS-мутагенеза связывают с дефектом функции хромосомных генов *umuC* [23]. Плазмиды, несущие гены мутабельности могут компенсировать их недостаток и способствовать управлению функцией мутабельности и адаптации бактерий [23].

Условно-патогенные микроорганизмы, по-видимому, обладают системами как специфической, так и неспецифической изменчивости, что обеспечивает быстрое и эффективное образование вирулентных штаммов бактерий при их пассаже на восприимчивых хозяевах и при переносе

в несвойственные условия обитания [23]. Аналогичные механизмы свойственны, скорее всего, и многим фитопатогенным бактериям, которые вынуждены адаптироваться к функционированию в условиях организма хозяина, противостоять его защитным системам и выживать в условиях внешней среды. Одним из условий выживания на поверхности растений является развитие у бактерий устойчивости к УФ [3]. Фитопатогенные бактерии лучше выживали на листьях растений в условиях стресса (засушливые условия, обработка H_2O_2 и УФ), чем непатогенные, и общая численность ассоциированных с листьями популяций патогенных штаммов *P. syringae* превышала численность популяций непатогенных [3].

Индукцированная нестабильность генома бактерий. Известно, что стрессовые условия вызывают повышение генетической изменчивости в популяциях, что создает основу для процессов адаптации. Адаптивность популяций, их устойчивость и надежность, особенно клоновых популяций, пропорциональна степени генетической изменчивости, существующей в популяции [88]. При резком изменении условий внешней среды популяция имеет возможность приспособиться к ним за счет либо использования имеющегося мутационного резерва, либо возрастания частоты возникновения новых мутаций.

Предполагают, что в клетках про- и эукариот имеются индуцибельные системы, способные приводить к существенной реконструкции генома при воздействии различных экзогенных и эндогенных факторов и функционируют механизмы их регуляции [23, 36]. Стрессовые условия вызы-

вают повышение нестабильности геномов через повышение частоты перемещения МГЭ, стимуляцию рекомбинационных процессов и мутагенной репарации, активацию латентных вирусов, освобождение из клеток ДНК и интенсификацию генетического обмена, сопровождающиеся снижением функционирования систем ограничивающих поступление чужеродной информации - систем рестрикции-модификации, что обеспечивает поддержание гетерогенности популяций, повышая их способность к выживанию и адаптации [7, 23, 36, 43, 89].

Изменчивость, частота мутирования клеток контролируется генотипом и существенно зависит от условий окружающей среды, а стимуляция перестроек может быть программируемым событием [49]. Установлено, что УФ-индуцированные мутации образуются в ДНК клетки бактерий неравномерно, большая их часть локализуется в так называемых "горячих" точках УФ-мутагенеза [25]. Считается, что повреждения ДНК, индуцирующие точечные и блочные перестройки генома, возникают не в области действия мутагенов (УФ, ионизирующего излучения, химических соединений), а в особых активных сайтах ДНК, в локусах, содержащих минисателлитные последовательности [23, 24]. Ионизирующее излучение не вызывает каких-либо новых биологических феноменов и, в сущности, только увеличивает частоту, с которой в выживших облученных клетках, точнее в образованных ими клеточных популяциях при нормальном функционировании возникают спонтанные генетические изменения, повышая частоту мутаций в минисателлитных локусах [24, 33]. Массовые транс-

позиции МГЭ могут происходить, в частности, в диапазоне доз ионизирующего излучения и УФ, вызывающих SOS-ответ, т.е при определенном уровне повреждений ДНК [23, 72].

Полагают, что стрессовые условия, стимулирующие изменчивость патогенов, могут в качестве одного из возможных вариантов привести к повышению патогенности и вирулентности бактерий, изменению частот определенных генотипов в их популяциях, в том числе в сторону гипервирулентности и лучшей приспособленности к новым условиям [5]. Возможно усиление вирулентности патогенов при ухудшении условий среды или при заражении мало адаптированных к данному паразиту хозяев [90]. С другой стороны, при высокой резистентности хозяев, как и при попадании в неблагоприятные условия внешней среды, возможно понижение вирулентности и агрессивности патогенных микроорганизмов с повышением их устойчивости и способности к выживанию. Таким образом, изменений свойств патогенов следует ожидать, прежде всего, в диапазоне доз стресс-факторов, вызывающем SOS-ответ, и проявляться они могут и как повышение, и как понижение агрессивности и вирулентности.

В то же время, генетические процессы в облучаемых популяциях существенно зависят от многих экологических факторов и обуславливаются всей совокупностью сложных, часто еще недостаточно исследованных процессов в облучаемых биоценозах, которые способны значительно модифицировать мутационные процессы, индуцированные радиацией [91]. Предполагают, что природные факторы отбора при достаточно высокой

интенсивности действия влияют на генетическую структуру популяций значительно эффективнее, чем загрязнение среды радионуклидами [91]. Основные популяционные изменения у фитопатогенных бактерий определяются их взаимоотношениями с растениями-хозяевами, которые, очевидно, и будут определять основные направления адаптации фитопатогенных микроорганизмов в условиях облучения с малой мощностью дозы. В природе вирулентные мутанты возникают постоянно и при больших объемах популяций бактерий вероятность появления спонтанных мутаций с измененной вирулентностью является достаточно высокой. Но, несмотря на постоянное возникновение высоковирулентных клонов, в условиях диких фитоценозов наблюдается тенденция к снижению общей вирулентности и агрессивности популяций патогенов и отсутствие значительных проявлений заболеваемости, поскольку эти новые формы фитопатогенов будут вынуждены также адаптироваться к условиям существования, как и спонтанные мутанты в диких биоценозах и их приспособление будет происходить в соответствии с теми же закономерностями. Повышение вирулентности и агрессивности у отдельных фитопатогенов должны носить временный характер, сменяясь периодами снижения патогенности. Уменьшение генетического разнообразия растений-хозяев в агроценозах сопровождается снижением разнообразия в популяциях паразитов, отбором наиболее приспособленных к условиям агроценозов генотипов, возрастанию их численности и накоплению агрессивных штаммов, способных осваивать даже

новые виды растений [92]. В этих условиях важное значение будут иметь процессы миграции потенциально опасных патогенов из мест их резервации, что может иметь место и при отсутствии повышенного радиационного фона.

Таким образом, приведенные факты свидетельствуют о присущей фитопатогенным бактериям генетической и эпигенетической нестабильности. Локализация инсерционных последовательностей в специфических локусах ДНК предопределяет характер и диапазон геномных перестроек, в результате которых могут возникать клетки, имеющие адаптивные преимущества. В целом, спонтанную и индуцированную нестабильность генома микроорганизмов можно рассматривать в качестве одного из механизмов адаптации их популяций, направленных на приспособление к изменяющимся условиям среды.

Список литературы

1. Перепнихатка В. И., Полевода Б. В. Генетические аспекты изучения бактерий *Pseudomonas syringae* // Микробиол. журн. - 1995. - 57, № 3. - С. 84-97.
2. Hirano S. S., Upper C. D. Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* pathogen, ice nucleus, and epiphyte // Microb. Mol. Biol. Rev. - 2000. - 64, № 3. - P. 624-653.
3. Vivian A., Murillo J., Jackson R. W. The roles of plasmids in phytopathogenic bacteria: mobile arsenals? // Microbiology. - 2001. - 147, Pt 4. - P. 763-780.
4. Gassmann W., Dahlbeck D., Chesnokova O., Minsavage G. V., Jones J. B., Staskawicz B. J. Molecular evolution of virulence in natural field strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* // J. Bacteriol. - 2000. - 182, № 24. - P. 7053-7059.
5. Крылов В. Н. Роль горизонтального переноса генов бактериофагами в возникновении патогенных бактерий // Генетика. - 2003. - 39, № 5. - С. 595-620.

6. Пасичник Л. А. *Pseudomonas fluorescens* - новый возбудитель заболевания ржи // Микробиол. журн. - 1995. - 57, № 2. - С. 3-7.
7. Кордюм В. А. Эволюция вирусов - попытка нелинейного прогноза // Биополимеры і клітина. - 2001. - 17, № 6. - С. 467-486.
8. Васильев Н. В., Коляда Т. И. Закон параллельной эволюции хозяина и паразита по Н.И.Вавилову и его роль в современную эпоху // Проблемы радиозкологии и пограничных дисциплин. - Вып. 3. - Заречный, 2000. - С. 26-40.
9. Гвоздяк Р. І., Лукач М. І. Епіфітна фаза *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* на бур'янах плодкових садів // Микробиол. журн. - 2001. - 63, № 3. - С. 43-50.
10. Lugtenberg B. J. J., Dekkers L., Bloemberg G. V. Molecular determinants of rhizosphere colonization by *Pseudomonas* // Annu. Rev. Phytopathol. - 2001. - 39. - P. 461-490.
11. Farag N., Stead D. E., Janse J. D. *Ralstonia (Pseudomonas) solanacearum* race, biovar 2, detected in surface (irrigation) water in Egypt // J. Phytopathol. - 1999. - 147, № 7-8. - P. 485-487.
12. Sikirova R., Wydra K., Rudolph K. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *vignicola*, incitant of cowpea bacterial blight and pustule on weeds and in soil and identification of other host besides *Vigna unguiculata* // Mitt. Biol. Bundesant. Land. - und Forsuit. Berlin-Dahlem. - 1998. - № 357. - P. 223.
13. Ito S., Ushijima Y., Fujii T. Detection of viable cells of *Ralstonia solanacearum* in soil using a semiselective medium and a PCR technique // J. Phytopathol. - 1998. - 146, № 8-9. - P. 379-384.
14. Wilson M., Lindow S. E. Relationship of total viable and culturable cells in epiphytic populations of *Pseudomonas syringae* // Appl. Environ. Microbiol. - 1992. - 58, № 12. - P. 3908-3913.
15. Гвоздяк Р. И. Полибиотрофия бактерии // Микробиол. журн. - 1981. - 43, № 2. - С. 256-262.
16. Cao H., Baldini R. L., Rahme L. G. Common mechanism for pathogens of plant and animals // Annu. Rev. Phytopathol. - 2001. - V 39. - P.259-284.
17. Parke J. L., Gurian-Sherman D. Diversity of the *Burkholderia cepacia* complex and implication for risk assessment of biological control strains // Annu. Rev. Phytopathol. - 2001. - 39. - P. 225-258.
18. Тимченко Н. Ф., Булгаков В. П., Булах Е. В. Взаимодействие *Yersinia*, *Listeria* и *Salmonella* с растительными клетками // Журн. микробиол. - 2000. - № 1. - С. 6-10.
19. Туряница А. И., Петак А. М., Ничик М. М., Коваль Г. Н., Шарга Б. М. К вопросу о механизме полибиотрофии бактерий рода *Klebsiella* // Микробиол. журн. - 1994. - 56, № 4. - С. 96.
20. Solomon E. B., Yaron S., Matthews K. R. Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization // Appl. Environ. Microb. - 2002. - 68, № 1. - P. 397-400
21. Момыналиев К. Т., Говорун В. М. Механизмы генетической нестабильности молликут (микоплазм) // Генетика. - 2001. - 37, № 9 - С. 1173-1187.
22. Домарадский И. В. Вирулентность бактерий как функция адаптации // Журн. микробиол. - 1997. - № 4. - С. 16-20.
23. Беляков В. Д., Голубев Д. Б., Каминский Г. Д., Тец В. В. Саморегуляция паразитарных систем. Молекулярно-генетические механизмы. - Л.: Медицина, 1987. - 240 с.
24. Мазурик В. К., Михайлов В. Ф. Радиационно-индуцируемая нестабильность генома. феномен, молекулярные механизмы, патогенетическое значение / Радиационная биология. Радиозкология. - 2001. - Т. 41, вып. 3. - С. 272-289.
25. Гребнева Е. А. Молекулярные механизмы образования мутации замены оснований при пострепликативной SOS-репарации двухцепочечной ДНК, содержащей тимин-динер / Биополимеры і клітина. - 2001 - 17, № 6. - С. 487-500
26. Хесин Р. Б. Непостоянство генома - М. Наука, 1985. - 472 с
27. Nakatsu C. H., Korona R., Lenski R. E., de Bruijn F. J., Marsh T. L., Forney L. J. Parallel and divergent genotypic evolution in experimental populations of *Ralstonia* sp. // J. Bacteriol. - 1998 - 180, № 17 - P. 4325-4331
28. Прозоров А. А. Рекомбиногенные перестройки генома бактерий и адаптация бактерий к среде обитания // Микробиология - 2001 - 70, № 5 - С. 581-594
29. Прозоров А. А. Горизонтальный перенос генов у бактерий лабораторное моделирование, природные популяции, данные

- геномики // Микробиология. - 1999. - 68, № 5. - С. 632-636.
30. Митькина Л. Н. Транспозиция как способ существования: фаг Му // Генетика. - 2003. - 39, № 5. - С. 637-656.
31. Dworkin J., Shedd O. L., Blaser M. J. Nested DNA inversion of *Campylobacter fetus* S-layer genes is recA dependent // J. Bacteriol. - 1997. - 179, № 23. - P. 7523-7529.
32. Kido N., Sugiyama T., Yokochi T., Kobayashi H., Okawa Y. Synthesis of *Escherichia coli* O9a polysaccharide requires the participation of two domains of WbdA, a mannosyltransferase encoded within the wb* gene cluster // Mol. Microbiol. - 1998. - 27, № 6. - P. 1213-1221.
33. Фогель Ф., Мотульски А. Генетика человека. - Т. 2. - М.: Мир, 1990. - 378 с.
34. Mutzgar D., Thomas E., Dewis C. The microsatellites of *Escherichia coli*: rapidly evolving repetitive DNAs in a non-pathogenic prokaryote // Mol. Microbiol. - 2001. - 39, № 1. - P. 183-190.
35. Суходолець В. В. Принципи організації прокариотического генома // Генетика. - 1992. - 28, № 1. - С. 28-37.
36. Солов'ян В. Т. Приспособление клеток к неблагоприятным факторам. Индукция геномных перестроек // Биополимеры и клетка. - 1991. - 7, № 1. - С. 50-54.
37. van Belkum A., Scherer S., van Alphen L., Verbrugh H. Short-sequence DNA repeats in prokaryotic genomes // Microbiol. Mol. Biol. Rev. - 1998. - 62, № 2. - P. 275-293.
38. Borst P., Greaves D. R. Programmed gene rearrangements altering gene expression // Science - 1987. - 235, № 4789. - P. 658-667.
39. Renders N., Licciardello L., Ijsseldijk C., Sijmons M., van Alphen L., Verbrugh H., van Belkum A. Variable numbers of tandem repeat loci in genetically homogeneous *Haemophilus influenzae* strains alter during persistent colonisation of cystic fibrosis patients // FEMS Microbiol. Lett. - 1999. - 173 № 1. - P. 95-102.
40. Strauss E. J., Falkow S. Microbial pathogenesis and genomics and beyond // Science. - 1997. - V. 276. - P. 707-712.
41. Дьяков Ю. Т., Озерецковская О. Л., Дваваихия В. Г., Багирова С. Ф. Общая и молекулярная фитопатология. - М.: Изд-во общества фитопатологов, 2001. - 302 с.
42. Hanekamp T., Kobayashi D., Hayes S., Stayton M. M. Avirulence gene D of *Pseudomonas syringae* pv. tomato may have undergone horizontal gene transfer // FEBS Lett. - 1997. - 415, № 1. - P. 40-44.
43. Шнырева А. В. Транспозоны как факторы различных перестроек и модификаций в геномах грибов // Генетика. - 2003. - 39, № 5. - С. 621-636.
44. Ohnishi H., Nishida T., Yoshida A., Kamio Y., Izaki K. Nucleotide sequence of pnl gene from *Erwinia carotovora* Er // Biochem. Biophys. Res. Commun. - 1991. - 176, № 1. - P. 321-327.
45. Nguyen H. A., Tomita T., Hirota M., Kaneko J., Hayashi T., Kamio Y. DNA inversion in the tail fiber gene alters the host range specificity of carotovoricin Er, a phage-tail-like bacteriocin of phytopathogenic *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* Er // J. Bacteriol. - 2001. - 183, № 21. - P. 6274-6281.
46. Kobayashi I. Behavior of restriction-modification systems as selfish mobile elements and their impact on genome evolution // Nucl. Acids Res. - 2001. - 29, № 18. - P. 3742-3756.
47. Суходолець В. В. Регуляторний отбор як альтернатива теорії нейтральності // Генетика. - 1995. - 31, № 12. - С. 1589-1597.
48. Спирідонова К. В., Андрєєв І. О., Солов'ян В. Т., Кунах В. А. Молекулярно-біологічні особливості геномних перебудов в культивованих in vitro клітинах раувольфії зміної // Генетика і селекція в Україні на межі тисячоліття. - Т. 1. - Київ: Логос, 2001. - С. 422-427.
49. Кунах В. А. Геномна изменчивость соматических клеток растений. 2. Изменчивость в природе // Биополимеры и клетка. - 1995. - 11, № 6. - С. 5-40.
50. Горбачева Л. А., Дударева Н. А., Салганик Р. И. Молекулярные механизмы устойчивости к патогенам // Успехи современной биологии. - 1991. - 111, вып. 1. - С. 122-136.
51. Wessler S. R. Transposable elements and the evolution of gene expression // Symp. Soc. Exp. Biol. - 1998. - 51. - P. 115-122.
52. Tauch A., Krieff S., Kalinowski J., Puhler A. The 51,409-bp R-plasmid pTP10 from the multiresistant clinical isolate *Corynebacterium striatum* M82B is composed of DNA segments initially identified in soil bacteria and in

- plant, animal, and human pathogens // *Mol. Gen. Genet.* - 2000. - 263, № 1. - P. 1-11.
53. *Chiou C. S., Jones A. L.* Nucleotide sequence analysis of a transposon (Tn5393) carrying streptomycin resistance genes in *Erwinia amylovora* and other gram-negative bacteria // *J. Bacteriol.* - 1993. - 175, № 3. - P. 732-740.
54. *Hacker J., Kaper J.B.* Pathogenicity islands and the evolution of microbes // *Annu. Rev. Microbiol.* - 2000. - 54. - P. 641-679.
55. *Jackson R. W., Athanassopoulos E., Tsiamis G.* Identification of a pathogenicity island, which contains genes for virulence and avirulence, on a large native plasmid in the bean pathogen *Pseudomonas syringae* pathovar *phaseolicola* // *Proc. Natl. Acad. Sci.* - 1999. - 96, № 19. - P. 10875-10880.
56. *Gibbon M. J., Sesma A., Canal A., Wood J. R., Hidalgo E., Brown J., Vivian A., Murillo J.* Replication regions from plant-pathogenic *Pseudomonas syringae* plasmids are similar to ColE2-related replicons // *Microbiology.* - 1999. - 145, № 2. - P. 325-334.
57. *Gonzalez C. F., Pettit E. A., Valadez V. A., Provin E. M.* Mobilization, cloning, and sequence determination of a plasmid-encoded polygalacturonase from a phytopathogenic *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* // *Mol. Plant Microbe Interact.* - 1997. - 10, № 7. - P. 840-851.
58. *Боронин А. М., Гвоздяк Р. И., Переппихатка В. И., Анисимова Л. А.* Плазмиды *Pseudomonas syringae* // *Изв. АН СССР. Сер. Биол.* - 1989. - № 6. - С. 916-921.
59. *Bilic M., Delic V.* Isolation and characterization of a cryptic plasmid from *Erwinia citreus* ATCC 31623 // *J. Appl. Microbiol.* - 1997. - 83, № 4. - P. 485-492.
60. *Nizan R., Barash i., Valinsky L., Lichter A., Manulis S.* The presence of *hrp* genes on the pathogenicity-associated plasmid of the tumorigenic bacterium *Erwinia herbicola* pv. *gypsophilae* // *Mol. Plant-Microbe Interact.* - 1997. - 10, № 5. - P. 677-682.
61. *Meletzus D., Bermphol A., Dreier J., Eichenlaub R.* Evidence for plasmid-encoded virulence factors in the phytopathogenic bacterium *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* NCPPB382 // *J. Bacteriol.* - 1993. - 175, № 7. - P. 2131-2136.
62. *Вербенко В. Н., Исаханова К. Г., Калинин В. Л.* Природная плаزمида pSD89 из *Salmonella derby*, повышающая радиоустойчивость штаммов *Escherichia coli* K-12 // *Генетика.* - 1999. - Т. 35, № 3. - С. 303-308.
63. *Анисимова Л. А., Боронин А. М.* Плазмиды *Pseudomonas aeruginosa*, контролирующие устойчивость к ультрафиолетовому облучению и повышенную мутабельность // *Генетика.* - 1982. - 18, № 8. - С. 1236-1244.
64. *Kim J. J., Sundin G. W.* Regulation of the *ruIAB* mutagenic DNA repair operon of *Pseudomonas syringae* by UV-B (290 to 320 nanometers) radiation and analysis of *ruIAB*-mediated mutability in vitro and in planta // *J. Bacteriol.* - 2000. - 182, № 21. - P. 6137-6144.
65. *Жестяников В. Д., Савельева Г. Е., Жеребцов С. В., Королько О. Ф.* Выживаемость и репарация одностранных разрывов ДНК после γ -облучения в клетках *Escherichia coli* в зависимости от присутствия плазмид pKM101 и ColIb-P9 // *Радиобиология.* - 1987. - 28, № 4. - С. 554-459.
66. *Francia I., Hernadi S., Szabolcs M., Hernadi F.* R46 and pKM101 plasmid-mediated resistance to ionizing radiation in *Escherichia coli* // *Radiat. Res.* - 1985. - 103, № 3. - P. 410-418.
67. *Горб Т. Е., Товкач Ф. И.* Метод исследования горизонтального переноса плазмид у *Erwinia carotovora* // *Микробиол. журн.* - 2002. - 64, № 3. - С. 20-26.
68. *Wei S. C., Dai H., Kuo T. T.* Transfer of plasmid RP4 into some phytopathogenic bacteria and its relation to their virulence // *Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi.* - 1983. - 16, № 1. - P. 8-19.
69. *Sundin G. W., Murillo J.* Functional analysis of the *Pseudomonas syringae* *ruIAB* determinant in tolerance to ultraviolet B (290-320 nm) radiation and distribution of *ruIAB* among *P. syringae* pathovars // *Environ Microbiol.* - 1999. - 1, № 1. - P. 75-87.
70. *Михеев А. Н., Гуца Н. И., Малиновский Ю. Ю.* Эпигенетические реакции клеток на действие ионизирующей радиации // *Радиационная биология. Радиоэкология.* - 1999. - Т. 39, вып. 5. - С. 548 - 556.
71. *Прозоров А. А.* Дифференцировка клеток и ее регуляция при генетической трансформации у бактерий // *Микробиология.* - 1997. - 66, № 1. - С. 5-13.
72. *Гераськин С. А.* Концепция биологического действия малых доз ионизирующей радиации // *Радиационная биология. Радиоэкология.* - 1995. - 35, № 5. - С. 571-580.

73. Салганик Р. И. Молекулярные механизмы стресс-индуцированной наследственной изменчивости // Генетика. - 1987. - 23, № 6. - С. 1003-1010.
74. Sriprang R., Vattanaviloon P., Mongkolsuk S. Exposure of phytopathogenic *Xanthomonas* spp. to lethal concentrations of multiple oxidants affects bacteria survival in a complex manner // Appl. Env. Microb. - 2000. - № 9. - P. 4017-4021.
75. Олескин А. В., Ботвинко И. В., Цавкелова Е. А. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов // Микробиология. - 2000. - 69, № 3. - С. 309-327.
76. Баснакьян И. А., Бондаренко В. М., Мельникова В. А., Белявская В. А. Стрессор-индуцибельные бактериальные белки и вирулентность // Журн. микробиол. - 2001. - № 5. - С. 101-108.
77. Kumar K. K., Srivastava R., Sinha V.B., Michalski J., Kaper J. B., Srivastava B. S. RecA mutations reduce adherence and colonization by classical and El Tor strains of *Vibrio cholerae* // Microbiol. - 1994. - 140, Pt 5. - P. 1217-1222.
78. Fuchs S., Muhldorfer I., Donohue-Rolfe A., Kerényi M., Emody L., Alexiev R., Nenkov P., Hacker J. Influence of RecA on in vivo virulence and Shiga toxin 2 production in *Escherichia coli* pathogens // Microb. Pathog. - 1999. - 27, № 1. - P. 13-23.
79. Buchmeier N. A., Libby S. J., Xu Y., Loewen P. C., Switala J., Guiney D. G., Fang F. C. DNA repair is more important than catalase for *Salmonella* virulence in mice // J. Clin. Invest. - 1995. - 95, № 3. - P. 1047-1053.
80. Liu Y., Fletcher H. M. The recA gene in *Porphyromonas gingivalis* is expressed during infection of the murine host // Oral Microbiol. Immunol. - 2001. - 16, № 4. - P. 218-223.
81. Martinez S., Martinez-Salazar J., Camas A. Evaluation of the role of recA protein in plant virulence with recA mutants of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* // Mol. Plant-Microbe Interact. - 1997. - 10, № 7. - P. 911-916.
82. Matsui H., Sano Y., Ishihara H., Shinomiya T. Regulation of pyocin genes in *Pseudomonas aeruginosa* by positive (prtN) and negative (prtR) regulatory genes // J. Bacteriol. - 1993. - 175, № 5. - P. 1257-1263.
83. Dodatko T. A., Kiprianova E. A., Smirnov V. V. The biological activity and physicochemical properties of a new bacteriocin from a strain of *Pseudomonas cepacia* 5779 // Mikrobiol. Zh. - 1989. - 51, № 4. - P. 68-74.
84. McEvoy J. L., Murata H., Chatterjee A. K. Genetic evidence for an activator required for induction of pectin lyase in *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* by DNA-damaging agents // J. Bacteriol. - 1992. - 174, 16. - P. 5471-5474.
85. Glazebrook J. A., Forster J. W., Strike P. Regulation of expression of the colicin gene of I1 group plasmid TP110 // J. Bacteriol. - 1983. - 155, № 1. - P. 122-128.
86. Baker C. J., Atkinson M. M., Roy M. A. Inhibition of the hypersensitive response in tobacco by pectate lyase // Physiol. Mol. Plant Pathol. - 1986. - 29. - P. 217-225.
87. Яблоков А. В. Популяционная биология. - М.: Высш. школа, 1987. - 303 с.
88. Кунах В. А. Геномная изменчивость соматических клеток растений. 6. Изменчивость и отбор в процессе адаптации к условиям выращивания *in vitro* // Биополимеры и клетка. - 2000. - 16, № 3. - С. 159-185.
89. Завильгельский Г. Б., Манухов И. В., Расторгуев С. М. Ослабление рестрикции I типа у *Escherichia coli*: действие гена *ard* в УФ-облученных клетках // Генетика. - 1996. - Т. 32, № 7. - С. 1013-1016.
90. Астафьев Б. А., Петров О. В. Эволюционно-генетическая теория паразитизма // Успехи современ. биологии. - 1992. - 112, № 2. - С. 163-175.
91. Шевченко В. А., Померанцева М. Д. Генетические последствия действия ионизирующих излучений. - М.: Наука, 1985. - 279 с.
92. Дьяков Ю. Т. Популяционная биология фитопатогенных грибов. - М.: ИД "Муравей", 1998. - 384 с.

Представлено В.А. Кунахом
Надійшла 30.01.2005 р.

ГЕНЕТИЧНА НЕСТАБІЛЬНІСТЬ ТА ЕПІГЕНЕТИЧНА МІНЛИВІСТЬ ЯК ОСНОВА АДАПТАЦІЇ ФІТОПАТОГЕННИХ БАКТЕРІЙ ДО ЗМІН УМОВ ІСНУВАННЯ

Ю. В. Шиліна

Інститут клітинної біології і генетичної інженерії НАН України,

03143, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 148;
e-mail: icbge_shilina@yahoo.com

Огляд присвячений проблемі спонтанної та індукованої генетичної нестабільності фітопатогенних бактерій. Наводяться дані, які свідчать про те, що бактеріям властива значна генетична і епігенетична нестабільність, обумовлена структурно-функціональними особливостями їх геномів (наявність повторюваних послідовностей, транспозонів тощо). Припускається, що за певних умов при дії стресових факторів можлива модифікація рівня мінливості у бактерій, що може супроводжуватися зміною патогенності, вірулентності й агресивності. Спонтанну та індуковану нестабільність генома бактерій можна розглядати в якості одного з механізмів адаптації. *Ключові слова:* фітопатогенні бактерії, генетична нестабільність, епігенетична мінливість, адаптація, іонізуюче випромінювання.

GENETIC INSTABILITY AND EPIGENETIC MODIFICATION AS ADAPTATION BASIS OF PHYTOPATHOGENIC BACTERIA TO CONDITION MODIFICATION

Y.V. Shilina

Institute of Cell Biology and Genetic Engineering, National Academy of Sciences of Ukraine,
03143, Kyiv, 148 Zabolotny st.,
e-mail: icbge_shilina@yahoo.com

The review is devoted to a problem of spontaneous and induced genetic instability of phytopathogenic bacteria. The data show that the significant genetic and epigenetic instability is peculiar to bacteria caused by structural-functional features their genomes (presence of short sequence repeats, transposable elements etc.). It is supposed, that in the certain conditions at stress factors influence the updating of bacteria variability is possible which can be accompanied by changing of pathogenicity, virulence and aggressivity. The spontaneous and induced genome instability of bacteria can be considered as one of adaptation mechanisms. *Key words:* phytopathogenic bacteria, genetic instability, epigenetic modification, adaptation, ionizing radiation.

УДК [576.851.94+375.113]614.7

ДЕЯКІ АСПЕКТИ БЕЗПЕЧНОСТІ КОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ

О. І. ЯЛОВЕНКО, О. М. ДУГАН¹

Інститут гігієни та медичної екології ім. О. М. Марзеева
02660, м. Київ, вул. Попудренка, 50

¹Національний технічний університет України "КПІ",
факультет біотехнології та біотехніки,
03056, м. Київ, проспект Перемоги, 37, корпус 4

Розглянуто проблеми безпечності косметичних засобів з точки зору індукції потенційної мутагенної і канцерогенної активності стійкими фарбами для волосся. Зроблено висновок про неоднозначну думку вчених і контролюючих органів щодо неспецифічної біологічної дії косметичних засобів. Рекомендовано продовжувати тестування складних косметичних композицій на здатність індукувати мутації.

Ключові слова: косметичний засіб, мутагенність, безпечність, канцерогенність

Косметичний засіб - це суміш речовин, які призначені для безпосереднього контакту з поверхнею тіла людини або з порожниною рота з метою їх очищення, захисту, підтримки у хорошому стані, зміни зовнішнього вигляду або корекції запаху, яка застосовується у нешкідливих для людського організму концентраціях з урахуванням кумулятивного і синергічного проявів.

Це визначення косметичного засобу, опубліковане А. Дециною і К. Бондаренко, дозволяє формально віднести до косметичної продукції будь яку косметичну композицію з урахуванням того, що речовина, яка досягла базального шару клітин епідермісу, далі потрапляє у дерму, кров'яне і лімфатичне русло і не викликає негативних наслідків в організмі споживача. Таким чином, виробники косметики зобов'язані звертати особливу увагу на безпечність самого засобу, а також інгредієнтів, що використовуються [1].

Косметичні засоби - це багатокомпонентні системи. Повсякденне застосування їх у побуті веде до того, що на поверхні шкіри з'являється ціла низка речовин різної природи, різних класів, груп і механізмів токсичної дії. Деякі з цих речовин залишаються біля поверхні рогового шару, пошкоджуючи ліпідні структури, у результаті чого він перестає виконувати бар'єрні функції. Інші - проникають аж до базального шару епі-

дермісу, вбудовуються в їх оболонки і уражають живі клітини, тобто діють як токсиканти, тому вони здійснюють на шкіру більш тривалий негативний вплив, ніж розчинники. Пошкоджують ліпідні структури в першу чергу речовини, які здатні безпосередньо взаємодіяти з ліпідами.

На сьогодні в науковій літературі, яка стосується токсичності косметичних засобів, однозначної думки не існує. Сенсаційна інформація, що з'являється час від часу про канцерогенність та мутагенність дезодорантів і фарб для волосся, у свій час була спростована Американським онкологічним товариством (American Cancer Society) і Національним онкологічним інститутом (National Cancer Institute) [2].

Ще однією проблемою безпеки косметичних засобів є численні публікації даних, які свідчать про те, що лаурилсульфат натрію і лауретсульфат натрію (найбільш поширені інгредієнти миючих і косметичних засобів) є шкідливими для шкіри, волосся і здоров'я людини в цілому [3,4]. Ця інформація частково була підтверджена Cosmetic Ingredients Review (організацією, що займається перевіркою безпеки косметичних інгредієнтів) [5]. Дійсно, було показано, що лаурилсульфат натрію і родинний йому лаурилсульфат амонію в концентрації 2% викликають подразнення шкіри у піддослідних тварин і у деяких людей, причому, подразнююча дія цих інгредієнтів підвищується зі збільшенням їх концентрації і часу контакту зі шкірою. В умовах експерименту доведено, що молекули лаурилсульфата натрію проникають в епідерміс, відкладаються в його ліпідах і пошкоджують корнеоцити [4]. У кінцевому рахунку це призводить до нако-

пичення цих речовин у клітинах шкіри та міжклітинному просторі у результаті чого порушується процес формування захисного бар'єру епідермісу. Тому тривале використання миючих засобів, що містять лаурилсульфат натрію чи амонію, може призвести до розвитку сухості шкіри, її лущення, випадіння волосся, появи комедонів, спровокувати дерматити. Крім того, висока здатність поверхнево-активних речовин (ПАР) руйнувати цілісність ліпідних пластів шкіри, що заповнюють простір між роговими лусочками, призводить до утворення проломів в епідермальному бар'єрі шкіри, через які до глибоких шарів шкіри спрямовуються водорозчинні та інші речовини косметичних засобів, які не мали ніяких шансів самотійно проникнути крізь непошкоджену шкіру. Механізм цього транспорту проходить наступним чином: ПАР вбудовуються в ліпідні шари таким чином, що їх гідрофобні ділянки розташовуються між жирними хвостами ліпідів, а гідрофільні звернені у водяну фазу. Так у біолої з'являються пори, стінки яких утворені гідрофільними ділянками молекул ПАР. Через ці отвори, заповнені водою, у більш глибокі шари шкіри починають надходити водорозчинні речовини [6]. Така специфічна дія ПАР полегшує резорбцію інгредієнтів косметичних засобів, забезпечуючи трансдермальну доставку їх крізь роговий та інші шари шкіри (так може спрощуватися і резорбція барвників фарб для волосся, їх окислених похідних, самих ПАР, продуктів взаємодії інгредієнтів косметичних засобів між собою). Однак, за даними Cosmetic Ingredients Review, у ПАР, навіть у порівняно високій концентрації не виявлені канцерогенні властивості [5].

Прямо протилежна інформація про мутагенні властивості лаурилсульфата натрію була опублікована в різні часи і різними авторами, починаючи з 1973 року [7]. Інформація про мутагенність цієї речовини також була опублікована і в подальші роки: в 1976 році - виявлення мутацій у мікроорганізмів з ензиматичною активацією (доза 200 мг/л), пошкодження ДНК клітин нирки морських свинок (доза 60 ммоль/л) [8,9], 1982 рік - пошкодження ДНК лімфоцитів людини при дії (доза 100 мг/л) [10], 1983 рік - індукція мутації у бактерій [11], 1985 рік - виявлення репарації ДНК в клітинах *Escherichia coli* [12], 1994 рік - пошкодження ДНК в клітинах печінки (доза 243 ммоль/л) [13].

Суперечливість інформації про токсичність лаурилсульфата натрію й амонію є підставою для утримання від використання їх у продуктах, розрахованих на тривалий контакт зі шкірою. Однак, експерти визнають їх безпечними в засобах, що очищують, які змиваються водою (шампуні, що очищують, гелі, пінки й т. д.). Косметичні засоби, що містять кожен з перерахованих інгредієнтів, не рекомендуються людям, що страждають вугровою хворобою, дерматитами, сухістю шкіри або втратою волосся.

Неоднозначна думка дослідників і про мутагенність та канцерогенність фарб для волосся. Вперше інформація про канцерогенність фарб для волосся, які містять похідні нафти, з'явилися в 1978 році [14].

Пізніше, у 1982 році, дослідники з Каліфорнійського університету, повідомили про факти підвищеної частоти появ мієломи (лейкоз з переважною поразкою системи плазматичних клітин кісткового мозку, порушення білкового обміну, ураження нирок) серед пе-

рукарів, чим серед інших людей. Було висловлене припущення, що етіологічним фактором мієлом могли бути фарби для волосся, шампуні, засоби для хімічної завивки волосся чи лаки [15].

Ще одним підтвердженням підозри у косметичних засобів потенційних мутагенних і канцерогенних властивостей була публікація в 1994 році Американського онкологічного товариства про те, що серед жінок, які протягом 20 років фарбували волосся у чорний колір, захворюваність лімфомою (пухлини лімфатичних вузлів чи лімфатичних тканин органів) виявилася в 4 рази вище середньої [2,16]. Наступні дослідження (1997-98 роки) причинно-наслідкових зв'язків між фарбуванням волосся і захворюваністю раком не знайшли [2]. Проте, в останні роки потік наукової інформації про те, що у жінок-перукарів частіше, ніж у представниць інших професій, буває рак грудей поступово збільшуються, однак без прив'язки до конкретних косметичних засобів [2].

Широке, активне, повсякденне застосування споживачами косметичних засобів, розширення діапазону їх дії на шкіру та її придатки завдяки використанню інгредієнтів з новими властивостями, що час від часу виявляються в косметиці і, за певних умов, можуть викликати рак у піддослідних тварин, а також накопичення експериментальних даних щодо генетичної, канцерогенної й алергенної дії окремих інгредієнтів, призводить до необхідності більш детального вивчення косметичних засобів у системі всебічної оцінки їх токсикологічних характеристик. Причому, важливим є всебічне вивчення токсичності саме косметичного засобу, не зважаючи на наявність (або відсутність) в його

складі речовин з відомими мутагенними і канцерогенними властивостями. Прикладом може служити поява в косметичному засобі нітросоамінів. Це обумовлено тим, що деякі косметичні інгредієнти містять аміни (звичайно, це можуть бути ПАР, різні емульгатори) або нітросполуки (консервант 2-бромо-2-нітропропан-1,3-діол). У разі наявності нітросполук в одній рецептурі з амінами, вони створюють нітросоаміни - речовини-мутагени і канцерогени [17].

Таким чином, думка дослідників і контролюючих органів відносно вивчення потенційних мутагенних і канцерогенних властивостей косметичних засобів є виправданою. Особливо це стосується таких засобів, що містять у якості інгредієнтів речовини з відомими канцерогенними і мутагенними властивостями. До таких косметичних засобів відносять фарби для волосся [18].

За призначенням фарби для волосся належать до трьох категорій: для тимчасового фарбування, для напівстійкого та перманентного фарбування. Засоби для тимчасового фарбування включають кислотні фарбники і пігменти, які розчинні у воді; при застосуванні вони розміщуються на поверхні волосся. Таке фарбування може бути ліквідовано поодиноким ефективним промиванням волосся шампунем. Рецептури фарб для напівстійкого фарбування волосся містять головним чином прості похідні нітросоамінів, нітрофенілендіамінів і нітроамінофенолів. Ці фарбники проникають в кутикулу і частково в кортекс волосся, у результаті чого їх ефект значно збільшується, а колір залишається і після 10 промивань шампунем.

Склади фарбників для перманентного фарбування волосся містять два

компонента. Один компонент - це *попередники* фарбника (може бути одна з наступних речовин: р-феніленедіамін; 2,5-діамінотолуен; N,N-бі(2-гідроксиметіл)-р-феніленедіаміни і нітроамінофеноли і модифікатори фарбника (може бути одна з наступних речовин: резорцінол, хлорорезорцінол, метілрезорцінол, α -нафтол, m-феніленедіамін, m-амінофенол). Другий компонент - це стійкий розчин *пероксиду водню*.

Ці два компонента змішуються безпосередньо перед застосуванням. Механізм дії фарбника наступний.

Попередники і *пероксид водню* проникають у стержень волосся і після певної послідовності хімічних реакцій формується відповідний колір шляхом окислювання їх до р-бензохінонімінів або діімінів. Ці речовини є реактивними проміжними продуктами у формуванні кольору.

Модифікатори відносно стійкі до пероксиду водню. Вони швидко реагують з проміжними продуктами в результаті чого утворюються дво-, три- або багатоядерні кольорові комплекси. Вони досить великі і не витікають зі структури волосся. Ці фарбники також називаються окислювальними фарбниками для волосся. Пероксид водню в даному випадку виконує функцію відбілювача. Формування відтінків відповідних кольорів залежить від попередників, рН і терміну контакту з волоссям.

Нами вже було відмічено, що відносно негативної дії на людину фарбників для волосся серед дослідників і виробників також немає однозначної думки. Так, дослідженнями університету південної Кароліни доведено, що жінки, які регулярно фарбували волосся стійкими фарбниками приблизно

один раз на місяць, у три рази частіше захворюють на рак сечового міхура. Аналогічному ризику піддаються і робітники перукарських салонів. На думку медиків університету Південної Кароліни, патологічна дія фарбників пов'язана в основному з двома компонентами: з парафенілендіаміном і тетрагідро-6-нітроквіноксалином - індукторами злоякісних новоутворень у ссавців [19]. У той же час представники Асоціації косметичної та парфумерної продукції вважають, що "Фарбники для волосся - найбільш вивчені і перевірені продукти косметичного ринку. Всі дослідження, які були проведені на сьогодні, доводять їх безпечність за умов використання згідно інструкції" [19].

Однак російські медики вважають, що застосування фарб для волосся сприяє розвитку трьох злоякісних захворювань - рака сечового міхура, мієломної хвороби і неходжкінських лімфом (НХЛ) - групи новоутворень, які уражують лімфатичну систему.

Епідеміологічні дані щодо наслідків використання протягом тривалого часу жінками фарб для волосся свідчать про реальну небезпеку стійких фарб: у жінок, які фарбували волосся протягом більш, ніж 20 років, частота виникнення НХЛ збільшилась на третину [15]. Аналогічні дані були отримані ученими Південно-Каліфорнійського університету відносно підвищеного ризику виникнення раку сечового міхура у жінок, які фарбували волосся стійкими фарбами. За даними цих дослідників при використанні напівстійких фарб і відтінкових засобів подібних проблем не виникало.

Вчені з університету Іллінойса також дійшли висновку про небезпечність стійких фарб, коли на основі епі-

деміологічних досліджень показали збільшення ризику розвитку лейкозів у 2 рази серед тих людей, які протягом 15 років фарбували волосся [20].

Канцерогенні ефекти стійких фарб спеціалісти пояснюють по-різному. З одного боку, дослідження співробітників хіміко-токсикологічного відділу Управління з харчових і лікарських засобів США виявили у 8 з 11 стійких фарб для волосся канцерогенну сполуку під кодовою назвою 4-ABP. Вона була знайдена у чорній, червоній і фарбі "а ля блондинка". Ця речовина не є обов'язковим компонентом чорної і червоної фарб, вона створюється як побічний продукт хімічних реакцій, які мають місце при виробництві фарб [21]. З іншого боку вважають, що всі стійкі фарби для волосся викликають окислення і в процесі окислення виникають нові речовини з канцерогенними/мутагенними властивостями, яких немає у самій фарбі [22].

Зв'язок між компонентами фарб для волосся та злоякісними захворюваннями, які виявлені не в зоні безпосереднього контакту, а в інших органах мішенях (сечовий міхур, лімфатична система), при способі застосування фарбуючих косметичних засобів - безпосереднє нанесення на шкіру волосистої частини голови та волосся на нетривалий час (20-30 хв), але протягом тривалого терміну (кілька десятків років) з періодичністю два тижні - 1 місяць, можна пояснити тільки абсорбцією інгредієнтів косметичних засобів крізь шкіру, або крізь слизові оболонки верхніх дихальних шляхів при інгаляційному надходженні.

Враховуючи літературні дані щодо мутагенних та абсорбційних властивостей фарб для волосся та їх інгредієнтів, а також численні результати

моніторингу населення, експерти SCCNFP (The Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products intended for Consumers) розробили Протокол стратегії тестування косметичних інгредієнтів фарб для волосся на потенціальну генотоксичність/мутагенність, який передбачає оцінку як окремих інгредієнтів, так і готових сумішей [18].

Запропонована спеціальною групою Європейського Союзу стратегія оцінки безпеки косметичних засобів альтернативними методами тестування, передбачає оцінку мутагенності/генотоксичності в чотири етапи. В тому випадку, коли на першому етапі оцінки (аналіз інформаційної бази даних) отримані позитивні результати, а засоби не можливо вилучити з обороту, то необхідно переходити до наступних етапів - проведення експериментальних досліджень для повного з'ясування реальної небезпеки мутагенного впливу готових косметичних засобів [23].

Перелік літератури

1. Децина А., Бондаренко К. Подходы к расчету питательной ценности косметических композиций // Косметика и медицина. - 1998. - № 6. - С. 46-53.
2. Morris J. A. Whether the cosmetics can be carcinogenic // Cosmetic Toiletries - 2004. - Vol. 127. - P. 44-52
3. Bergfeld W. F., Belsito D. V., Marks J. G., Andersen F. A. Safety of ingredients used in cosmetics // J Am Acad. Dermatol. - 2005, № 52 (1). - P. 125 - 132.
4. Gloor M., Senger B., Langenauer M., Fluhr J. W. On the course of the irritant reaction after irritation with sodium Lauril sulphate // Skin Res and Technol. - 2004. - № 10. - P. 144-148.
5. Malbin I., Hall G. Cosmetic Ingredient Review Publishes New 2005 Compendium // Euro Cosmetics. - 2005. - Vol. 11. - P. 22-36.
6. Марголина А. А., Эрнандес Е. И., Зайкина О. Э. Новая косметология. - М.: ООО "Фирма Кламель", 2000. - 204 с.

7. Lochamann Ernsch-Randolf. Chromosomal damages by Sodium lauryl sulfate in *Sachromyces cerevisiae* as studied by pulsed field gel electrophoresis // Journal of Bacteriology. - 1973. - Vol. 115. - P. 461
8. Topham J. C., Watkins P. A. Experience with mutagenic tests as indicators of carcinogenic activity // Food and Cosmetics Toxicology. - 1976. - Vol. 14. - P. 431
9. Leberherz W. B., Andrews A. W. Use of the microorganism in the mutagenicity studies of Sodium lauryl sulfate // Journal of Dental Research. - 1976. - Vol. 55. - P. 266.
10. Gordon L. A., Burkhart J. G., Andrews A. W. Mutagenicity of cosmetics ingredients licensed by the European community // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. - 1982. - Vol. 28. - P. 504.
11. Final Report on the Safety Assessment of Sodium Lauryl Sulfate // Journal of the American college of Toxicology. - 1983. - Vol. 2, № 7. - P. 134-138.
12. Dunkel V., Zieger E., Brusick D., McCoy E., McGregor D., Mortelmans K., Rosenkranz H. and Simmon V. Reproducibility of microbial mutagenicity assays. II. Testing of carcinogens and noncarcinogens in *Salmonella typhimorium* and *Esherichia coli* // Mutation Research. - 1985. - Vol. 158. - P. 19.
13. Alan R. Liss K. Green, Ph. D. Detergent Penetration into Young and Adult eyes // Environmental and Molecular Mutagenesis. - 1994. - Vol. 24. - P. 181.
14. Venitt S. Mutagenicity of hair dyes: some more evidence and the problems of its interpretation // Mutation Research. - 1978. - V. 53. - P. 278-279.
15. Correa A., Mohan A., Jackson L., Perry H., Helzlsouer K. Use of hair dyes, hematopoietic neoplasmas and lymphomas: a literature review. I. Leukemias and myelodysplastic syndromes // Cancer Investigation. - 2000. - Vol. 18. - P. 366-380.
16. Scarlet J., Babich J., Xin Fang Ma, Gutenman W. Mutagens found in Cosmetologist // Journal of Toxicology and Environmental Health. - 1994. - Vol. 30. - P. 1230-1237.
17. О. Е. Беликов, Т. В. Пучкова. Консерванты в косметике и средствах гигиены. - М.: Школа косметических химиков, 2003. - 84 с.
18. SCCNFP/0566/02 Proposal for a strategy for testing hair dye cosmetic ingredients for their

- potential genotoxicity/mutagenicity// *Cosmetic Toiletries*. - 2002. - Vol. 117. - P. 25 - 30.
19. *Chung K., Murdock C. A., Stevens S. E. Jr, Wei C. Li. Y, Huang T., Chou M.W.* Mutagenicity and toxicity studies of p-phenylenediamine and its derivatives // *Toxicological Letter*. - 1995. - Vol 81. - P. 23-32.
20. *Rauscher G. H., Shore D., Sandler D. P.* Hair Dye Use and Risk of Adult Acute Leukemia // *American Journal of Epidemiology*. - 2004. - Vol. 160, №. 1. - P. 19-25.
21. *Correa A., Mohan F., Jackson L., Perry H., Helzlsouer K.* Use of hair dyes, hematopoietic neoplasms, and lymphomas: a literature review. I. Leukemias and myelodysplastic syndromes // *Cancer Investigation*. - 2000. - Vol. № 18. - P. 366-380.
22. *Sardas S., Aygun N., Karakaya A. E.* Genotoxicity studies on professional hair colorists exposed to oxidation hair dyes // *Mutation Research*. - 1997. - Vol. 394. - P. 153-161.
23. *Maurici D., Aardema M., Corvi R., Kleber M., Krul C., Laurent C., Lopieno N., Pasanen M., Pfuhler S., Phillips B., Sabbioni E., Sanner T., Vanparys P.* 3.7 Genotoxicity and Mutagenicity. A Report Prepared in the Context of the 7 th Amendment of the of the Cosmetics Directive for Establishing the Timetable for Phasing Out Animal Testing. Alternative (Non-Animal Methods for Cosmetics Testing: Current Status and Future Prospects) // *ATLA*. - 2005. - Vol. 33, Supplement 1. - P. 117-130.

Представлено І. Р. Баріляком
Надійшла 11.10.2005 р.

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ БЕЗОПАСНОСТИ КОСМЕТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

Е. И. Яловенко, А. М. Дуган¹

Институт гигиены и медицинской экологии им. О.М. Марзеева
02660, г. Киев, ул. Попудренко, 50

¹Национальный технический университет Украины "КПИ"
03056, г. Киев, проспект Победы, 37, корпус 4, факультет биотехнологии и биотехники

Рассмотрены проблемы безопасности косметических средств с точки зрения индукции потенциальной мутагенной и канцерогенной активности стойкими красками для волос. Сделан вывод о неоднозначной мнения ученых и контролирующих органов относительно неспецифического биологического действия косметических средств. Рекомендовано продолжать тестирование сложных косметических композиций на способность индуцировать мутации.

Ключевые слова: косметическое средство, мутагенность, безопасность, канцерогенность.

SOME ASPECTS OF SAFETY OF COSMETIC MEANS

O. Yalovenko, O. Dugan¹

Institute of Hygiene and Medical Ecology of a name O. M. Marzeev,
02660, Kiev, Popudrenko str., 50

¹National Technical University of Ukraine "KPI"
Faculty of a biotechnology and biotechnic
03056, Kiev, Pobedy pr., 37, build 4

The reviewed problems of safety of cosmetic means from the point of view of induction of potential mutagenic and carcinogenic activity by permanent hair dyes. Drawn a conclusion about ambiguous thought of scientific and controlling organs of rather unspecific biological effect of cosmetic means. It is recommended to prolong testing of composite cosmetic formulations for capacity to induce mutations.

Key words: cosmetic means, mutagenicity, safety, carcinogenicity.

УДК 635.63: 631.527

ЗБАГАЧЕННЯ АСОРТИМЕНТУ ОВОЧЕ-БАШТАННИХ РОСЛИН В УКРАЇНІ

Г. І. ЯРОВИЙ, О. В. КУЗЬОМЕНСЬКИЙ, Л. Є. ПЛУЖНІКОВА

Інститут овочівництва і баштанництва УААН
62478, Харківська область, п/в Селекційне,
e-mail: ovoch@intercomplex.kharkov.ua

Наведено результати селекційної роботи зі створення сортів і гібридів овоче-баштанних рослин в Інституті овочівництва і баштанництва УААН та його мережі. Показано переваги нових сортів/гібридів перед районованими стандартами. Ключові слова: овоче-баштанні рослини, сорт/гібрид, селекція, випробування

Вступ. В існуючих економічних умовах виробники використовують енергозберігаючі технології вирощування овоче-баштанної продукції, велику увагу приділяючи конкурентноздатним гібридам і сортам. В роботі провідних селекційно-генетичних центрів світу прослідкується тенденція до забезпечення конкурентноздатності нових сортів та гібридів овоче-баштанних рослин за рахунок підвищення якості та розширення сфери використання товарної продукції [1]. Завдяки цьому вони добилися значних успіхів у створенні гетерозисних гібридів томата, огірка, перцю солодкого, баклажана, кавуна (як для умов відкритого так і закритого ґрунту), капусти білоголової, цибулі ріпчастої, моркви. На ринку України представлені гібриди різного напрямку використання, серед яких значне місце займають зразки російської і голландської селекції. З 1990 року в реєстрі сортів рослин України з'явилися перші гетерозисні гібриди вітчизняних овочевих рослин, і їх кількість поступово зростає. В останні роки значно підсилена вітчизняна селекція гетерозисних гібридів огірка бджолозапилювального і партенокарпічного типу [2], томата [3, 4], перцю солодкого [5], однак об'єми виробництва гібридного насіння досить невеликі, що пов'язано з високою його собівартістю, особливо для самозапильних культур де створення гібридів ведеться на фертильній основі.

Пріоритетні напрямки селекції

Існуючі вітчизняні сорти і гібриди овоче-баштанних рослин ще не в повній мірі задовольняють вимоги виробника, особливо по таких ознаках як вирівняність, товарність, технологічність, а іноземні - не завжди адаптовані до умов вирощування в зонах України і мають більш низькі харчові та смакові властивості. Вивчення попиту споживача дало змогу зосередитись на створенні сортів і гібридів за відповідними якостями - скоростиглих, з дружньою віддачею раннього врожаю, з високими харчовими властивостями, стійких проти найбільш поширених хвороб, з більшим потенціалом адаптивності до стресових умов вирощування, придатних як для свіжого споживання так і для переробки. По деяких культурах (томат, перець солодкий, баклажан, кавун), ведеться створення нетрадиційних (декоративних) форм, які користуються попитом у фермерів, овочівників та огородників-аматорів.

В Інституті овочівництва і баштанництва УААН та мережі його науководослідних центрів (НДЦ) ведеться селекційна робота по створенню сортів і гетерозисних гібридів з більш ніж 50 овоче-баштанними, малопоширеними та ефіро-маслічними рослинами. В Реєстрі сортів рослин України на 2005 рік знаходиться 234 сорта і гібрида селекції Інституту та його дослідних центрів, що складає 27 % від загальної кількості овоче-баштанних, пряноароматичних та ефіроолійних рослин.

У зв'язку з зміною факторів навколишнього середовища, з появою нових рас і штамів шкочинних хвороб, виникає потреба постійного оновлення і поповнення асортименту конкурентоздатних сортів і гібридів. Нео-

бхідні скоростиглі, холодостійкі гібриди і сорти томата та перцю солодкого, з більш транспортабельними плодами та підвищеним вмістом біологічно-цінних речовин; більш ранньостиглі, засухостійкі форми баклажана, з більш м'якушем та низьким вмістом солонина. Для відкритого ґрунту відсутні холодостійкі ранньостиглі і середньостиглі потрібні гібриди огірка, які мають значно більшу врожайність і спрощують гібридне насінництво. З розповсюдженням шкочинної хвороби огірка пероноспорозу, засолювальні сорти, такі як Ніжинський-12, втратили свою актуальність, і тому виникла потреба створення засолювальних гібридів огірка, стійких проти пероноспорозу і бактеріозу. Для отримання екологічно безпечної продукції з закритого ґрунту необхідно створити ранньостиглі, короткоплідні гібриди огірка бджолозапилувальні і партенокарпічні, стійкі проти білої і кореневої гнилей, пероноспорозу та бактеріозу. В Реєстрі сортів рослин України 65 сортів і 9 гібридів коренеплідних і малопоширених культур, які містять багатий асортимент біологічно-цінних речовин і забезпечують людину свіжою лікувальною продукцією на протязі року.

Створення сортів і гібридів потрібного напрямку вимагає наявності повноцінного вихідного матеріалу з комплексом бажаних кількісних та якісних ознак, високою комбінаційною здатністю, наявністю чоловічої стерильності та стійкістю проти найбільш шкочинних хвороб. Виникає необхідність розширення генетичної мінливості за рахунок більш активного використання нових джерел зародкової плазми з більш вираженою генетичною дивергентністю, а саме - мутантних форм,

напівкультурних різновидів та диких видів.

Так, в даний час, досить широке використання в селекції томата одержали мутантні гени, що детермінують габітус рослини - *sp* (детермінантний габітус), *d* (штамбовість) і *br* (укорочені міжвузля) [6]. Особливий інтерес викликає їх взаємодія, оскільки, по суті, усі вони мають східний ефект - зменшуючи гіллястість рослини, одночасно збільшуючи її компактність. Спільна їх присутність в одному генотипі створює адитивний фактор, при якому ці гени підсилюють фенотиповий прояв один одного. Цей селекційно створений генетичний комплекс мутантних генів, забезпечує максимально компактну модель штамбової рослини, що рекомендується для механізованого збирання плодів томата. Дана модель була використана при створенні штамбового сорту томата Чайку [7]. Сорт отриманий методом східчастої гібридизації з послідовним насиченням штамбового генотипу комплексом бажаних господарсько-цінних

ознак, з наступним індивідуальним доборою і перевіркою ознак у потомстві. Основою послужила мутантна лінія *Togosa (sp, d, br, bl, j-2^m, u)*, від якої сорт успадкував компактність, укорочені міжвузля і стійкість до розтріскування. Новий сорт відрізняється високою якісною розсадою, яка має стійкість до загущення, не витягується, формує могутню, мочковату кореневу систему, більш стабільно зберігає тургор клітин і легко переносить пересадження забезпечуючи більш високий відсоток приживлюваності в полі. Сорт придатний для цільноплідного консервування і переробки. В 2002 році сорт передано в Державне сортовипробування. Це є одним з прикладів ефективного використання мутантної мінливості в практичній селекції.

Сучасні селекційні здобутки

За останні роки (2001-2004) в Інституті та його НДЦ створено 68 сортів і гібридів, які передано до Державної служби з охорони прав на сор-

Таблиця 1. Передано сортів і гібридів овоче-баштанних рослин до Державної служби з охорони прав на сорти рослин (по роках шт.)

Установа оригінатор	1996-2000	2001	2002	2003	2004
Інститут овочівництва і баштанництва УААН	41	11	6	6	6
Дніпропетровський НДЦ	7	0	5	0	0
Донецький НДЦ	12	0	1	6	0
Київський НДЦ	13	2	1	1	4
НДЦ "Маяк"	5	5	0	1	6
Сквирський НДЦ	10	2	4	1	0
Кримська ДС ІПОБ	13	1*	-	-	1*
Всього	101	20	17	15	16

*- сумісно з ІОБ УААН

ти рослин (ДСС) для проведення кваліфікаційної експертизи (табл. 1). Серед створеного асортименту поступово зростає частка гетерозисних гібридів, яка сьогодні складає 22 %. За 2001-2005 роки в Реєстр сортів рослин України внесено 89 сортів і гібридів овоче-баштанних та малопошире-

грунту; гібрид Класик F₁ - ранній, плоди округлої форми, середньою масою 82 г, яскраво-червоного забарвлення, без зеленої плями, вміст сухої речовини 5,5 %, загального цукру - до 3,3 %, вітаміну С - 23,00 мг/%, β-каротину 0,21 мг/%, загальна урожайність 52,0 т/га, для відкритого ґрунту; сорт Асте-

Таблиця 2. Занесено до Державного реєстру сортів рослин України по роках (шт.)

Установа оригінатор	1996-2000	2001	2002	2003	2004	2005
Інститут овочівництва і баштанництва УААН	30	3	12	12	8	1
Дніпропетровський НДЦ	5	3	0	2	1	0
Донецький НДЦ	4	3	1	2	3	3
Київський НДЦ	13	2	0	3	5	4
НДЦ "Маяк"	6	4	0	0	3	1
Сквирський НДЦ	9	3	1	2	1	2
Кримська ДС ІПОБ	9	3	1	0	1*	-
Всього	76	21	15	21	21	11

*- сумісно з ІОБ УААН

них рослин Інституту та мережі його науково-дослідних центрів (табл. 2).

В 2003-2004 роках передано до випробування в ДСС 31 сорт і гібрид. Серед яких сорти і гібриди томата: Лагоранж (Черкаський відділ ІОБ) - середньостиглий, з оранжевими плодами сливоподібної форми, який за рахунок наявності гена *B* має підвищений вміст β-каротину до 2,8 мг/%, урожайність 95 т/га, для відкритого ґрунту; Кравис (Донецький НДЦ) - середньостиглий, з плодами стійкими до розтріскування та перестигання, урожайність 49,1 т/га, для відкритого ґрунту; Фастівський-1 F₁ (Київський НДЦ) - скоростиглий, придатний для свіжого споживання і переробки, урожайність 60 т/га, для відкритого

роїд - середньостиглий, плоди плескато-округлої форми, середньою масою 220 г, при досяганні яскраво-червоного забарвлення, без зеленої плями, вміст сухої речовини 5,6 %, цукру - 3,6 %, вітаміну С - 24,52 мг/%, β-каротину - 0,36 мг/%, загальна урожайність 38,6 т/га, для відкритого ґрунту; сорт Віканте - середньостиглий, плоди плескато-округлої форми, масою 200-300 г, малинового забарвлення, без зеленої плями, вміст сухої речовини 5,6 %, загального цукру - до 3,7 %, вітаміну С - 23,00 мг/%, β-каротину - 0,22 мг/%, загальна урожайність 34,2 т/га, для відкритого ґрунту; сорт Клондайк - середньостиглий, плоди плескато-округлої форми, масою 200-350 г, оранжевого забарвле-

ння, без зеленої плями, вміст сухої речовини 5,7 %, загального цукру - до 3,7 %, вітаміну С - 24,69 мг/%, β -каротину 0,97 мг/%, загальна урожайність 36,3 т/га, для відкритого ґрунту; КНДЦ-45 F₁ гібрид Бармалей F₁ - ранньостиглий, з добрими смаковими якостями, урожайність 16,1 кг/м², для закритого ґрунту; гібрид Цветік F₁ - ранній, округлий, без зеленої плями, урожайність 16,6 кг/м², для закритого ґрунту.

Створено холодостійкий, середньоранній сорт перцю солодкого Валюша (ІОБ УА-АН), який відзначається великими плоди конусоподібної форми масою 105 г, світло-жовтого кольору в технічній стиглості, загальна урожайність 30,5 т/га, рання 12 т/га, стійкий проти антракнозу, верхівкової гнилі, вміст вітаміну С 144 мг/ %[5]. В Донецькому НДЦ створено перший гетерозисний гібрид на стерильній основі - Гранд F₁, який відзначається високою скоростиглістю та посухостійкістю, плоди у технічній стиглості салатного, в біологічній - темно-червоного забарвлення, маса товарного плоду 95 г, тривалість від сходів до технічної стиглості 105 днів, універсального призначення, з урожайністю 47,4 т/га. На Донецькому НДЦ також створено новий середньостиглий сорт баклажана Сауран, який має плоди грушоподібної форми, темно-фіолетового глянцевого забарвлення, з щільним м'якушем без гіркоти. Сорт середньостиглий з урожайністю 41,6 т/га.

Асортимент сортів і гібридів огірка поповнив потрібний гібрид для відкритого ґрунту Левадний F₁ (Сквирський НДЦ). Гібрид середньостиглий, з урожайністю 35-40 т/га, відносно стійкий проти пероноспорозу і бактеріозу, придатний для свіжого спожи-

вання і соління. Для весняно-літньої культурозміни закритого ґрунту створено ранньостиглий гібрид огірка Сувенір F₁ (ІОБ УААН)[2]. Рослини переважно жіночого типу цвітіння, плоди довжиною 14-16 см, масою 112-117 г. Урожайність 22-23 кг/м³, товарність плодів на рівні 90 %, відносно стійкий проти ураження кореневими гнилями і пероноспорозом, придатний для свіжого споживання і консервування. Рекомендується для вирощування в гідропонних теплицях.

Родина гарбузових поповнилась також новими сортами кабачка і патисона селекції Донецького НДЦ, де створено ранньостиглий сорт кабачка цукіні Аспірант, з дружньою віддачею раннього врожаю, загальною врожайністю 48,1 т/га, стійкий проти борошнистої роси. Патисон - Сашенька, з врожайністю товарних плодів 20,4 т/га.

Все більшу популярність набувають нетрадиційні овочеві рослини, селекція яких активно ведеться в науково-дослідному центрі "Маяк". Створено ранньостиглий сорт гірчиці листової Зорянка з урожайністю зеленої маси 8,9 т/га. Сорт придатний для вирощування у відкритому і закритому ґрунті. Сорт селери коренеплідної Рома, який відрізняється холодо-стійкістю і переважає за загальною урожайністю сорт-контроль на 22,2 %, за товарною - на 32 %. Сорт рекомендується використовувати як у свіжому вигляді та і для переробки. Сорти бамії Сопілка і Діброва - середньостиглі, відрізняються вирівняністю, адаптовані до вирощування в зоні Лісостепу і Полісся України, урожайність сорту Сопілка на 35 %, Діброва - на 50 % вища за контроль. Сорт крес-салату Холодок - ранньостиглий, переважає районований сорт Весть за урожайністю

зелені на 9,2 ц/га, придатний до загущених посівів і механізованих технологій. Цей сорт стійкий до стеблуння. Сорт петрушки Стихія - ранньостиглий, кучеряволистний, високоврожайний, відзначається високою декоративністю, використовують у свіжому вигляді, для переробки і консервної промисловості. Сорт більш стійкий проти хвороб при зберіганні.

Велику увагу приділяється селекції сортів цибулевих рослин. В 2003 році створено два сорти цибулі ріпчастої Любчик і Львівський. Любчик (ІОБ УААН) - середньостиглий, вегетацій-

ний період 106-110 днів, загальна врожайність 20,0-25,0 т/га, товарна 18,0-24,0 т/га, маса товарної цибулини 70-100 г, лежкий, з вмістом сухої речовини 13,0 %, загального цукру 8,4 %, вітаміну С 6,7 мг%. Сорт Львівський (Львівський відділ ІОБ УААН) - ранньостиглий, вегетаційний період 90-95 днів, загальна врожайність 43,0 т/га, товарна 42,5 т/га, маса товарної цибулини 150-200 г, лежкий, з вмістом сухої речовини 13-15 %, загального цукру 8-9 %, вітаміну С 7-8 мг%. В 2004 році передано до служби Державного випробування сорт цибулі

Таблиця 3. Внесено до Реєстру сортів рослин України на 2003 рік

Рослина	Назва сорту, гібриду	Установа оригінатор	Урожайність, т/га, *(кг/м ²)	Скоростиглість
Огірок	Ксана F ₁	ІОБ УААН	13,7*	СС
	Льоша F ₁	Донецький НДЦ	35,8*	РС
Томат	Алла-2 F ₁	ІОБ УААН	22,3*	СС
	Княжич F ₁	ІОБ УААН	17,3*	РС
	Богун F ₁	ІОБ УААН	39,5	РС
	Святослав F ₁	ІОБ УААН	37,1	РС
	Іришка	ІОБ УААН	41,0	РС
	Золоте руно F ₁	Київський НДЦ	23,5	СС
Перець солодкий	Миролюбівський F ₁	Київський НДЦ	27,0	РС
Цибуля ріпчаста	Мавка	ІОБ УААН	30,0	СС
Цибуля батун	П'єро	ІОБ УААН	50,6	РС
Капуста білоголова	Ольга	Київський НДЦ	53,3	ПС
Кабачок	Світозар	Донецький НДЦ	36,2	РС
Гарбуз	Світень	Дніпропетровський НДЦ	23,8	РС
Диня	Злата	Дніпропетровський НДЦ	5,7	РС
Кукурудза розлусна	Даніель	ІОБ УААН	43,5	СС
Пастернак	Гормон	Сквирський НДЦ	16,8	СС
Селера	Цілитель	Сквирський НДЦ	27,0	РС
Меліса лимонна	Соборна	ІОБ УААН	10,0	СС
Базилік городній	Юнга	ІОБ УААН	10,5	РС
Змієголовник	Медоніс	ІОБ УААН		РС

Примітки: РС - ранньостиглий; СС - середньостиглий; СР - середньоранній; СКС - скоростиглий; СП - середньопізній.

ріпчастої Ялтинський Рубін (селекції ІОБ УААН сумісно з Кримською ДС ІПОБ) - середньостиглий, салатного призначення, цибулина плескатої форми, маса до 90 г, урожайність до 26,3 т/га. Створено нові сорти багаторічної цибулі - різанець, сорт Прилипський (ІОБ УААН), і цибулі запашної, сорт Етюд (Донецький НДЦ). Так, молоде листя і стебла цибулі запашної використовують з ранньої весни як приправу для різних салатів, супів, соусів. У листках міститься 55-80 мг/% вітаміну С. Урожайність зеленої

маси 2,6 т/га. Цибуля запашна пристосована для осінньої вигонки.

Створено новий сорт моркви столової Колгоспниця (НДЦ "Маяк") - середньоранній, переважає за урожайністю сорт-контроль Оленка на 6,9 т/га при товарності 85 %, урожайність пучкової ранньої продукції 12 т/га. Сорт редиски Ясочка (Київський НДЦ) - коренеплід діаметром 4-5 см, вегетаційний період 20-22 дні, урожайність 2 кг/м², маса товарного коренеплоду 23 г. Вміст сухих речовин - 4,6 %, цукру - 2,4 мг/100г, аскорбінової

Таблиця 4. Внесено до Реєстру сортів рослин України на 2004 рік

Рослина	Назва сорту, гібриду	Установа оригінатор	Урожайність, т/га, *(кг/м ²)	Скоростиглість
Томат	Карась	ІОБ УААН	33,2	РС
	Весняний F ₁	ІОБ УААН	15,0*	РС
	Доля F ₁	Київський НДЦ	25,8*	СС
	Данило F ₁	Київський НДЦ	25,6*	РС
	Побратим F ₁	Київський НДЦ	16 2*	РС
Перець солодкий	Злагода F ₁	ІОБ УААН	45,9	РС
	Віконт	Донецький НДЦ	25,7	СС
Цибуля городня	Альгіз	Донецький НДЦ	26,2	РС
	Спринт (Славний)	Донецький НДЦ	28,9	РС
	Амфора	ІОБ УААН	26,8	СП
Цибуля шалот	Ліра	ІОБ УААН	15,7	СКС
Часник	Дюшес	ІОБ УААН	9,0	СС
Диня	Рада F ₁	Київський НДЦ	3,6*	РС
Гарбуз	Гамлет	Дніпропетровський НДЦ	59,2	РС
Морква	Кримчанка	ІОБ УААН, Кримська ДС	33,4	РС
	Ласуня	Київський НДЦ	44,4	СП
	Квітневська	Сквирський НДЦ	38,6	РС
Васильки справжні	Перекотипале	НДЦ "Маяк"	27,5	СС
	Рутан	НДЦ "Маяк"	34,8	РС
	Сяйво	НДЦ "Маяк"	28,5	СС
Лофант	Початок	ІОБ УААН, Закарпатський	34,0	СКС

Примітки: РС - ранньостиглий; СС - середньостиглий; СП - середньоранній; СКС - скоростиглий; СП - середньопізній.

Таблиця 5. Внесено до Реєстру сортів рослин України на 2005 рік

Рослина	Назва сорту, гібриду	Установа оригінатор	Урожайність, т/га, *(кг/м ²)	Скоростиглість
Цибуля різанець	Приліпський	ІОБ УААН	10,0-15,0	РС
Томат	Водограй	Київський НДЦ	28,2	СС
	Оберіг	Київський НДЦ	65,0	СС
	Попільнянський	Київський НДЦ	65,0	СС
	Миколка F ₁	Київський НДЦ	75,0	СС
Горох овочевий	Стригунок	Сквирський НДЦ	8,1	РС
Кукурудза цукрова	Дракон	Сквирський НДЦ	14,1	СС
Квасоля овочева	Сюїта	Донецький НДЦ	10,0-15,0	РС
Патисон	Сашенька	Донецький НДЦ	20,4	РС
Цибуля запашна	Етюд	Донецький НДЦ	2,6	РС
Гірчиця салатна	Зорянка	НДЦ "Маяк"	8,9	РС

Примітки: РС - ранньостиглий; СС - середньостиглий.

кислоти 22,1 мг/100 г. Рекомендують-ся для плівкових теплиць.

В 2003 році районувано 21 сорт і гібрид з яких на долю останніх припадає 38 % (табл. 3). На 2004 рік до Реєстру сортів рослин України включено 21 зразок, з яких частка гібридів складає 28,6 % (табл. 4). На 2005 рік признано придатними для поширення в Україні 11 сортів і гібридів (табл. 5).

Таким чином ресурси вітчизняних овоче-баштанних рослин значно поповнено гібридами томата і огірка, як закритого так і відкритого ґрунту, гібридами перцю солодкого на фертильній та стерильній основі, дині для плівкових теплиць, сортами таких малопоширених рослин, як гірчиця листової, селери, бамії, крес-салату, цибулі різанця та цибулі запашної [8]. Напрацьовується селекційна база для створення високопродуктивних пізньостиглих гетерозисних гібридів капусти білокачанної, лежких високотоварних гібридів цибулі ріпчастої, високотоварних гібридів моркви та буряка столового.

Перелік літератури

1. Кузєменский А. В. Селекционно-генетические исследования мутантных форм тома-та. - Харьков, 2004. - 392 с.
2. Плужнікова Л. Є. Ранньостиглий гібрид огірка для закритого ґрунту // Овочівництво і баштанництво. - Харків, 2004. - С. 296-299.
3. Кравченко В. А., Кузєменский А. В., Ерєменко В. В. Скороспелые, холодостойкие гибриды F₁ томата на Украине // Научные труды (к 70-летию института) "Овощеводство - состояние, проблемы, перспективы". - М.: Всероссийский НИИ овощеводства, 2001. - Т. 2. - С. 128-129.
4. Кравченко В. А., Кузєменский А. В., Ерєменко В. В. Оценка экологической пластичности и стабильности гибридов F₁ томата // Овочівництво і баштанництво. - Харків, 2001. - Вип. 45. - С. 246-254.
5. Куракса Н. П. Крупноплідний сорт перцю солодкого Валюша // Овочівництво і баштанництво. - Харків, 2004. - Вип. 49. - С. 244-248.
6. Кузєменский А. В. Природа штамбовых форм томата и их практическая ценность для селекционно-генетических исследований // Физиология и биохимия культурных растений. - 2004. - Т. 36. - № 5. - С. 427-436.
7. Кузєменский А. В., Кравченко В. А., Ерєменко В. В. Новые штамбовые сорта то-

мата Чайка и Фунтик // Тезисы докладов Междунар. научно-практ. конф. по пасленовым культурам. - Астрахань: Изд-во Астраханского гос. Ун-та, 2003. - С. 24.

8. Кривець Д. О., Чабан Л. В., Позняк О. В. Перспективний сорт гірчиці салатної Зорянка // Овочівництво і баштанництво. - Харків, 2004. - Вип.49. - С. 322-325.

Представлено В. Г. Михайловим
Надійшла 11.02.2005 р.

ОБОГАЩЕНИЕ АССОРТИМЕНТА ОВОЩЕ-БАХЧЕВЫХ РАСТЕНИЙ В УКРАИНЕ

Г. И. Яровой, А. В. Кузьоменский,
Л. Е. Плужникова

Институт овощеводства и бахчеводства УААН
62478, Харьковская область, п/о Селекционное
e-mail: ovoch@intercomplect.kharkov.ua

Приведены результаты селекционной работы по созданию сортов и гибридов овоще-бахчевых растений в Институте овощеводст-

ва и бахчеводства УААН и его сети. Показаны преимущества новых сортов/гибридов перед районированными стандартами.

Ключевые слова: овоще-бахчевые растения, сорт/гибрид, селекция, испытание.

ENRICHMENT OF VEGETABLE AND MELON PLANTS ASSORTMENT IN UKRAINE

G. I. Yrovoy, A. V. Kuzemeskiy,
L. Ye. Pluzhnikova

Institute of Vegetables and Melons UAAS
62478, Kharkov rg. P.O. Selectsionnoye
e-mail: ovoch@intercomplect.kharkov.ua

There are given results of breeding work on creation work on creation of vegetable and melon plants varieties and hybrids at Institute of Vegetables and Melons, UAAS and its net. *Advantages of new varieties/hybrids over zoned standards are shown.*

Key words: vegetable and melon plants, varieties/hybrids, breeding, testing.

УДК 575(09)

СТРАНИЦЫ ИСТОРИИ ГЕНЕТИКИ В УКРАИНЕ И НАУЧНАЯ ШКОЛА В. Г. ШАХБАЗОВА

В. Ф. ЧЕШКО

Харьковский национальный университет им. В. Н. Каразина
г. Харьков, пл. Свободы 4

Рассматривается история формирования Харьковской научной генетической школы (особенно - в период, когда школу возглавил В. Г. Шахбазов), которая внесла заметный вклад в отечественную и мировую науку.

Ключевые слова: история генетики, Харьковский университет, В. Г. Шахбазов

1 998-2000 годы - время, когда совпало сразу несколько юбилейных событий. Сто лет назад были переоткрыты законы Менделя и началась история новой науки, отмеченная взлетами человеческого интеллекта и духа, открытиями, которые изменили лицо современной цивилизации, и преступлениями против человечества, оправдываемыми той же самой генетикой, или, точнее, тем, что под ней понимали некоторые политические деятели.

И еще один юбилей - печальный. 7 августа 1948 в Москве завершилась IV сессия Всесоюзной академии сельскохозяйственных наук имени В. И. Ленина, став кульминацией, того, что одни называли "крупнейшим вкладом советской науки в золотой фонд мировой культуры", а другие - "крупнейшем скандалом в истории науки".

Эта статья - биографический очерк жизни одного из наших современников и, одновременно, действующего лица той драмы, которую можно назвать историей отечественной генетики. Но ни герой такого очерка, ни наука, которой он посвятил свою жизнь не являются ординарными. Хорошо это или плохо, но судьбы ученого в нашей стране слишком прочно завязаны с историей бурного XX века. Их научные взгляды имели непосредственную связь с их личной судьбой.

Настоящий очерк поэтому можно определить как эскизный набросок истории научной школы и личной судьбы ее основателя в социа-

льно-политическом контексте бурного XX века.

Харьковская генетическая научная школа. Уже в последнее предреволюционное десятилетие среди биологов Харьковского университета наблюдался заметный подъем интереса к изучению наследственности. Преподаватели и сотрудники биологических кафедр университета поддерживали довольно оживленные контакты с первыми отечественными научными генетическими школами - Н. К. Кольцова в Москве и Ю. А. Филипченко в Санкт-Петербурге. Последний в предреволюционные годы вел достаточно длительные исследования на принадлежавшей университету гидробиологической станции под Харьковом наследственной изменчивости в онтогенезе некоторых низших насекомых и сделал доклад об использовании новейших в то время вариационно-статистических методов в биологии и генетике [1] - факт, оставшийся малоизвестным отечественным историкам науки.

В этот период не только интеллектуальная атмосфера, но и сама экономическая ситуация в Украине благоприятствовали развитию генетических исследований. Не умаляя заслуг отечественных селекционеров и генетиков, трудом которых в 20-е - первую половину 30-х годов достигнут значительный прогресс в теории и практике селекции, надо признать, что фундамент этого рывка был заложен в последние предреволюционные десятилетия. Высокий уровень развития селекции и семеноводства в Украине объяснялся, прежде всего, существованием здесь мощной сельскохозяйственной инфраструктуры, сформировавшейся вокруг предприятий

сахарной промышленности, которые в силу своего лидирующего положения служили центрами кристаллизации агрономической культуры вообще. В любопытной книге "Сортоводные станции Сахаротреста", изданной в Киеве в 1923 г. общая состояние селекции и семеноводства сахарной свеклы накануне революции оценивалось как "цветущее" [2].

В зарождении генетики в Харькове весьма заметную роль сыграли два человека - профессор ботаники Харьковского университета Владимир Митрофанович Арнольди и приват-доцент той же кафедры Валерий Иванович Талиев.

В. М. Арнольди сразу же оценил фундаментальное значение менделизма; один из его учеников Л. А. Бенике еще в 1912-1915 г. г. не только приступил к экспериментальной разработке цитологических основ менделевских закономерностей, но и начал чтение курса генетики для студентов - первым в Украине и практически одновременно с Ю. А. Филипченко в России. Помимо этого, основы менделизма излагались в курсе "Эволюционная теория", который читал В. А. Талиев.

Тогда же на кафедру зоологии были приглашены из Санкт-Петербурга проф. Евгений Александрович Шульц, состоявший в оживленной переписке с крупнейшими представителями европейской и российской школы экспериментальной биологии (А. Вейсман, Г. Дриш, О. Бючли, П. Каммерер, А. Г. Гурвич, С. И. Метальников и др.) и из Киева - его близкий друг Г. Ф. Арнольд. Благодаря этому, также как и прочной интеллектуальной традиции, сложившейся в Харьковском университете к тому времени, препода-

даватели и студенты "смогли, - как вспоминал позднее выпускник Харьковского университета [3], - окунуться в самую гущу новых дискуссионных биологических вопросов".

Революционные события 1917 г. и вспыхнувшая вслед за ними Гражданская война коренным образом изменили ситуацию. Харьков пережил немецкую оккупацию, многократные смены властей самой различной политической ориентации. Из ученых старшего поколения, причастных к формированию Харьковской генетической научной школы остался один Г. Ф. Арнольд, которому она и обязана своим возрождением. Вскоре после окончательной победы большевиков начался период взаимной адаптации нового политического режима и научной интеллигенции. В Украине и, в том числе, в Харькове, где по выражению некоего В. Качинского [4] научные работники "еще не очухались от демократической одури", он проходил особенно болезненно. В начале 20-х годов университеты были здесь упразднены. Вместо них были организованы несколько новых учебных и научно-исследовательских учреждений, созданных для "научного обслуживания" отдельных отраслей производства и других сфер социальной жизни. В частности, на базе бывшего биологического факультета Харьковского университета была создана в 1921 г. Научно-исследовательская кафедра зоологии Харьковского института народного образования. С 1 августа 1930 г. по Постановлению Совета Народных Комиссаров УССР она была преобразована в Харьковский филиал Всеукраинского зообиологического института, возглавляемого И. И. Шмальгаузенем [5]. Руко-

водил работой филиала Г. Ф. Арнольд. Сам он был зоологом, пытался вести исследования по биометрической генетике медоносной пчелы. Безусловной его заслугой является то, что здесь собралась большая группа талантливых зоологов и эволюционистов, считающих себя его учениками. Среди них - И. М. Поляков, Е. И. Лукин, Э. Е. Уманский и многие другие.

Сектор генетики был здесь создан еще в 1932 г. Руководил им Илья Михайлович Поляков [6]. Судя по некоторым архивным материалам [7], создание нового сектора представлялось первым шагом на пути реализации широкой программы исследований в области генетики, которая должна была привести к возникновению Института генетики и селекции АН Украины, действительно созданному впоследствии (1946 г.) и просуществовавшему до 1956 г. В работе сектора наметились два направления исследований - теоретико-эволюционное (И. М. Поляков и Е. И. Лукин) и экспериментально-генетическое (Н. В. Дубовский). Для укрепления генетического направления в сектор были приглашены из Института экспериментальной биологии АН СССР по совместительству Н. П. Дубинин в качестве научного консультанта, а его жена М. Г. Цубина - научным сотрудником.

Перечень вопросов, которыми занимались сотрудники сектора поражает своей широтой - от искусственных мутаций и эффекта положения гена (влияния локализации гена в хромосоме на его функциональную активность) до исследований в области теории эволюции и истории науки. Спустя три года руководство сектора с оттенком гордости сообщало, что научно-исследовательских учреж-

дений с целевой установкой на разработку философско-методологических основ эволюционной теории в стране тогда не было. Объективно говоря, подобная идеологическая ориентация научных исследований в начале 30-х годов сыграла положительную роль, обеспечив поддержку со стороны государственного руководства и приведя к созданию Харьковской эволюционно-генетической научной школы, завоевавшей спустя всего десять лет значительный авторитет.

Между тем постановлением Совета Народных Комиссаров Украины от 10 марта 1933 г. в стране были вновь открыты 5 университетов, в том числе, и Харьковский [8], где на биологическом факультете была создана кафедра общей биологии и генетики.

Для руководства кафедрой был приглашен известный советский вирусолог (впоследствии - чл.-кор. АН СССР) В. Л. Рыжков, судьба которого, судя по личному делу, хранящемуся в архиве Харьковского государственного университета, к этому времени изобиловала неожиданными и крутыми поворотами, достойными пера Александра Дюма. В своей автобиографии он пишет, что полученное им систематическое образование исчерпывалось 4-мя классами гимназии, из которой он ушел, тяготясь религиозным воспитанием. Не получил он и законченного высшего образования, если не считать Харьковского коммунистического университета. Одно время (с 1916 г.) он редактировал художественный журнал "Сириус", был членом ВКП (б), откуда "выбыл механически" в 1919 г. в Симферополь. В 20-е годы В. Л. Рыжков был инструктором Харьковского губполитпросвета и редактором естестве-

нно-научных издательств "Путь просвещения" и "Червоный шлях", а с 1922 г. был на преподавательской работе. В 1926 г. он был командирован в Германию, где стажировался у К. Корренса. С 1930 г. В. Л. Рыжков руководил кафедрой ботаники Крымского педагогического института (Симферополь). Впрочем, подобные авантюрные повороты бли характерны для многих отечественных ученых, чья молодость пришлась на начало XX века.

В. Л. Рыжкову принадлежат работы по биологии развития цветковых растений, генетике пола, истории науки и т. д. В харьковский период своей жизни он опубликовал, в частности, монографии "Генетика пола" (1936), не утратившую своего информационного значения и до сих пор, и "Вирусные болезни растений" (1935), первое издание которой ("Мутации и болезни хлорофиллового зерна", 1933 г.) была одной из первых сводок по генетике цитоплазматических органоидов. Тогда же В. Л. Рыжков увлекался идеей о тождестве вирусов с факторами наследственности. По его представлениям длительные модификации - это результат трансгеноза, т. е. внедрения в организм чужеродного генетического материала, представляющего собой вирусы. Другим вопросом, интересовавшим, В. Л. Рыжкова, было влияние внешней среды на функционирование генетической системы определения пола. Он полагал, что наряду с прямой зависимостью "генотип-фенотип", существует обратная связь между внутренней средой организма и функционированием хромосомного аппарата.

Итак, генетическая научная школа Харьковского университета возникла в результате взаимодействия по

крайней мере трех исследовательских групп, ведущих свое начало от ведущих эволюционистов, ботаников и генетиков России и Украины.

В 1936 г. В. Л. Рыжков покидает Харьков и переезжает в Москву. С 1937 г. кафедрой руководит И. М. Поляков, а она сама получает новое название - кафедра дарвинизма и генетики, которое сохраняет до 1966 г. (современное название - генетики и цитологии). Центр тяжести научно-исследовательской работы кафедры и сектора еще больше смещается в сторону эволюционно-генетической проблематики. Этому посвящена и докторская диссертация Н. В. Дубовского, которую он закончил вскоре после войны (защита диссертации не состоялась). В отчете о научно-исследовательской работе Харьковского университета за 1946 г. подготовленная им рукопись оценивается как "теоретическая разработка одной из актуальнейших общебиологических проблем" [9] - вопроса о возможности обратимости биологической эволюции. И. М. Поляков накануне войны подготовил первый в стране вузовский учебник по дарвинизму, а Е. И. Лукин издал монографию, посвященную проблемам географической изменчивости организмов, которая внесла заметный вклад в формирующуюся тогда синтетическую теорию эволюции. Наряду с этим, продолжались собственно генетические исследования. В этом смысле одним из наиболее ценных приобретений для Харьковского университета стал один из учеников С. С. Четверикова - В. П. Эфроимсон, чья кандидатская и докторские диссертации, посвященные генетике онтогенеза шелкопряда, были защищены здесь в 1941 и 1946 г. г.

(Вобщем же Харьков, кажется, стал в 40-е годы неким прибежищем для опальных морганистов и их учеников - после войны сюда же переезжает другая ученица сосланного в Горький С. С. Четверикова - Зоя Софроньевна Никоро).

Начавшаяся Великая Отечественная война прервала нормальное течение научных исследований. Многие сотрудники кафедры (В. П. Эфроимсон, А. Ф. Шереметьев, бывший аспирант Н. В. Дубовского - М. П. Воловик) оказались в Действующей армии, другие - на оккупированной территории (Н. В. Дубовский) или в эвакуации (И. М. Поляков, П. В. Михайлова, Л. В. Кельштейн и др.). Нормальная деятельность кафедры, как и всего университета, начала восстанавливаться с 1944 г. В 1948 г. Харьков стал по признанию адептов "мичуринской агробиологии и советского творческого дарвинизма" наряду с Москвой и Ленинградом крупнейшим оплотом вейсманизма-морганизма в СССР.

"Морганисты под красным знаменем". Естественно, харьковские генетики не могли оставаться в стороне борьбы между "двумя направлениями в советской генетике", развернувшейся особенно интенсивно со второй половины 30-х годов. Одни из них (В. П. Эфроимсон, З. С. Никоро) в отношении Т. Д. Лысенко заняли абсолютно непримиримую позицию. Взгляды и поведение других (включая И. М. Полякова) получили из уст одного из "мичуринцев" - С. С. Перова - хлесткий эпитет "формальная генетика под красным флагом" [10]. Он, тем не менее, достаточно точно отвечает действительным намерениям этой группировки защитить основные положения классической теории с марк-

систских позиций, подвести под нее диалектико-материалистический фундамент. Справедливости ради надо напомнить, что попытки синтеза марксизма и генетики предпринимались ими и до появления на сцене Т. Д. Лысенко - с конца 20-х годов. И. М. Поляков принимал участие и в дискуссиях в редакции журнала "Под знаменем марксизма" (1939 г.), и в последующих событиях. Обвинения И. М. Полякова в "объединении генетики и лысенковщины", на наш взгляд имеют более глубокие основания, чем просто "угода нарастающему влиянию мичуринской биологии". В ряде случаев, например, на конференции по проблемам дарвинизма в МГУ (накануне августа 1948 г.) И. М. Поляков выступал достаточно принципиально. Все же, его позиция прямо вытекала из первоначальной идеологической установки - "борьбы на два фронта". В определенной мере это давало также некоторую возможность для маневрирования в сложной обстановке тех лет (независимо от того, насколько искренни были эти взгляды).

В 1932 г. в Харькове была издана на украинском языке монография И. И. Презента "Случайность и ортогенез в эволюции"[6]. Редактором книги был И. М. Поляков. Эта работа практически целиком была написана с позиций "формальной генетики". Ее автор тогда признавал роль случайности в наследственной изменчивости и критиковал Ж.-Б. Ламарка за постулат о наследовании благоприобретенных признаков, справедливо заметив, что он непосредственно ведет к признанию изначальной целесообразности живых организмов.

С середины 30-х годов планы подготовки аспирантов кафедры генети-

ки и дарвинизма включали в себя ознакомительную практику в Одесском селекционно-генетическом институте длительностью один месяц. Целью практики было овладение методами работы Т. Д. Лысенко.

Претерпевает определенные изменения и тематика научных исследований. И. М. Поляков пытался вначале сочетать разработку проблемы избирательности оплодотворения - ключевой во взглядах Т. Д. Лысенко, с проведением экспериментов, основанных на методах и теоретических предпосылках менделизма. В октябре 1939 г. он принял участие в Совещании по генетике и селекции в редакции журнала "Под знаменем марксизма", критикуя как менделистов, так и "мичуринцев". С позиций сегодняшнего дня его выступление поражает сочетанием удивительно чутких догадок (предвидением роли нуклеиновых кислот в наследственности) с высказываниями, прямо обусловленными политической конъюнктурой или идеологической зашоренностью. И все же И. М. Поляков в конце своего выступления заявил: "Нужно возражать против универсализации менделизма, которая имеется, но с другой стороны, сбрасывать менделизм со счетов и объявлять его лженаучным я считаю невозможным и неверным" [11].

Хронику событий, которые в то время называли "торжеством передовой советской мичуринской агробиологической науки", в Харькове можно начать с так называемого "дела В. П. Эфроимсона". Его "преступление" заключалось в распространении среди студентов и сотрудников кафедры дарвинизма и генетики Харьковского университета переведенной им ста-

ты выдающегося американского генетика украинского происхождения Ф. Добржанского [12-14].

Осенью 1947 г. Э. Е. Уманский - известный своими исследованиями механизмов регенерации, выступил с довольно резкой критикой некоторых положений "мичуринской генетики" на партийном собрании.

Еще одним штрихом, характеризующим научную и гражданскую позицию Э. Е. Уманского, служит его защита А. Р. Жебрака, обвинявшегося тогда в потере чувства патриотизма и научной чести. Если поверить уже упоминавшейся статье А. Коржа, "проф. Уманский заявил, что акад. Лысенко лжеученый, идеалист и по существу считает, что статья Жебрака, помещенная в реакционном американском журнале, не заслуживает того резкого осуждения, которому ее подвергали".

Интересной фигурой среди противников Т. Д. Лысенко в Харьковском университете был выпускник Московского университета, известный эколог Н. И. Калабухов. Очевидно именно он был инициатором написания полемической статьи, подготовленной совместно с И. М. Поляковым и Е. И. Лукиным, которую они направили в "Литературную газету". Статья опубликована не была.

С 3 по 8 февраля 1948 г. в Москве состоялась Дарвиновская научная конференция, созванная по инициативе Ученого Совета Биологического факультета МГУ как ответная мера на пропаганду воззрений Т. Д. Лысенко в области эволюционной теории. Позднее утверждалось, что "когда была организована конференция антимиичуринцев, кафедра дарвинизма и генетики всем своим составом выехала

на эту конференцию, пригласив целый ряд работников биологического факультета", в том числе, Е. И. Лукина и Н. И. Калабухова.

И в этот водоворот страстей, взлетов и падений человеческого духа, связанных казалось бы с вполне бесстрастной, "академической" наукой - генетикой окунулся студент биологического факультета, специализировавшийся по кафедре экспериментальной экологии Н. И. Калабухова, Валерий Шахбазов. Можно понять его чувства, которые он испытывал вернувшись их экспедиции в Уссурийскую тайгу и наблюдая лавину событий, обрушившуюся в роковой день 7 августа 1948 г. - бесчисленные заседания, конференции, собрания, резолюции, приказы и постановления. Все это могло оставить впечатление, что герои этой истории должны были чувствовать себя теми самыми "винтиками" внезапно приведенной в действие государственной машины.

В экстремальной ситуации люди вели себя по разному. Только немногие нашли в себе силы занять жестко негативную позицию. Непримиимые менделисты особое внимание прессы не привлекали - о них попросту умалчивали.

Спустя несколько лет Ф. Добржанский основное значение этой катастрофы увидел в уроке и предостережении, которые может извлечь из него мировая цивилизация [15].

На основании результатов исследований межличностных взаимосвязей, а также контент-анализа тематики научных исследований можно говорить о полной дезинтеграции структурного ядра генетической научной школы Харьковского университета. Когда спустя несколько лет началось

возрождение школы, то основную роль в ней играли уже представители другой исследовательской группы - школы экспериментальной экологии животных Н. И. Калабухова, в первую очередь, В. Г. Шахбазов.

Возрождение. Школа Шахбазова. Вся научная деятельность В. Г. Шахбазова связана с Харьковским университетом. Он поступил в университет в 1945 г. В студенческие годы активно занимался исследованиями в области экологии и генетики. Его учителем по экологии был проф. Н. И. Калабухов, по физиологии и биохимии - проф. А. В. Нагорный и проф. И. Н. Буланкин, по зоологии и энтомологии - проф. И. Б. Волчанецкий и проф. С. И. Медведев, по генетике - Э. С. Никоро и В. П. Эфроимсон.

В 1948-1949 гг. В. Г. Шахбазов провел две экспедиции в Приморский край, где им были найдены местообитания дикого дубового шелкопряда. Живой материал был привезен на Украинскую шелкостанцию и в Харьковский университет. При изучении шелкопрядов Шахбазовым были разработаны новые методы исследования. Им сконструирован респирометр - для исследования дыхания мелких организмов, создана новая методика изучения суточной активности гусениц. В 1949 г. В. Г. Шахбазов с отличием окончил университет и был оставлен в Институте биологии для научной работы.

В 1950 г. молодой ученый провел третью экспедицию в Приморский край, в которой, кроме дикого дубового шелкопряда, открыл местообитание дикого тутового шелкопряда. Привезенный материал был использован для многих исследований, в частности для опытов акад. Б. Л.

Астауровым по межвидовому андрогенезу. В результате трех экспедиций В. Г. Шахбазовым было описано распространение и систематическое положение дубового шелкопряда, которого он назвал уссурийским. Им были впервые получены плодовые межвидовые гибриды китайского и уссурийского шелкопрядов. Размотка гибридных коконов показала высокое качество шелковой нити. У шелкопрядов В. Г. Шахбазов открывает фоторецептор, через который свет непосредственно влияет на головной мозг насекомых. Через несколько лет это открытие было подтверждено зарубежными учеными. Результаты исследований, проведенных на шелкопрядах, имели большое теоретическое и практическое значение, но их использованию помешало то, что в те годы волевым решением в нашей стране было прекращено разведение дубового шелкопряда - продуцента ценного шелка - чесучи.

Однако межвидовые и межпородные гибриды шелкопрядов были использованы В. Г. Шахбазовым в дальнейшем как модель для изучения важного общебиологического явления - гетерозиса (гибридной силы). В 1954 г. после защиты кандидатской диссертации В. Г. Шахбазов избирается на должность доцента кафедры дарвинизма и генетики для преподавания курса общей генетики. В эти же годы он преподает курс шелководства и эмбриологии насекомых в Харьковском сельскохозяйственном институте.

Это были тяжелые годы для биологии в нашей стране. Однако В. Г. Шахбазов излагал студентам основы классической генетики, труды Г. Менделя и Т. Маргана. В дальнейшем он

стал одним из членов-учредителей Всесоюзного общества генетиков и селекционеров им. Н. И. Вавилова. С тех пор он - член Центрального совета этого общества. Много сил В. Г. Шахбазов приложил для возрождения генетики в Украине. Выступал с докладами и статьями, организовывал группы лекторов. Большую работу по переподготовке учителей вел в Харьковском институте усовершенствования учителей, за что был награжден почетным знаком "Отличник народного образования".

Основной темой его научной работы в университете становится изучение природы гетерозиса. Расширяется круг объектов. Кроме шелкопрядов - это дрозофила, лабораторные мыши и крысы, сельскохозяйственные растения. Поддерживая научные контакты с известным селекционером В. Е. Козубенко, Шахбазов детально изучает проявления гетерозиса на семенах и проростках кукурузы. Им были открыты не известные ранее проявления гетерозисов, в частности, более высокая терморезистентность семян и проростков гетерозисных гибридов и предложен практический метод - термо-тест для прогнозирования эффекта гетерозиса.

В 1964 г. при поддержке Академии наук УССР и ректора университета проф. В. И. Хоткевича В. Г. Шахбазов организует при кафедре лабораторию биофизической генетики. В лаборатории под его руководством ведутся интенсивные исследования биофизических проявлений инбредной депрессии и гетерозиса, освоена и успешно используется в генетических исследованиях методика измерений трансмембранных и электрокинетических потенциалов клеточных ядер,

путем УФ-спектроскопии нативных клеток установлена более высокая терморезистентность ядерных ДНК гибридов. Итоги исследований по проблеме гетерозиса в 1966 г. В. Г. Шахбазов представляет к защите и защищает докторскую диссертацию. В этом же году он избирается на должность заведующего кафедрой генетики и цитологии Харьковского университета.

Под руководством В. Г. Шахбазова учебная и научная работа кафедры была существенно перестроена. Научная работа сконцентрирована на направлениях биофизической, биохимической и эколого-физиологической генетики. При кафедре открыта аспирантура и научный отдел биофизической генетики. Многие аспиранты и сотрудники под руководством В. Г. Шахбазова защитили диссертации. Были изданы методические пособия по курсу генетики, генетическому анализу, цитологии, эволюционному учению и другие. В сфере научных интересов по-прежнему остается проблема гетерозиса, а также генетика онтогенеза, генетика пола, генетика неспецифической устойчивости. Кроме растений и животных, объектом генетических исследований становится и человек. Устанавливаются многочисленные связи не только с селекционными, но и с медицинскими учреждениями.

Под руководством В. Г. Шахбазова установлены не известные ранее проявления гетерозиса: увеличение в клетках гибридов ядрышко-ядерного отношения, степени асинапсиса гомологичных хромосом, содержания ядерных РНК и кислых белков, биоэлектрических потенциалов клеточных ядер и скорости активации генов. На

основании экспериментальных исследований ученым была выдвинута новая биофизическая концепция гетерозиса, а также гипотеза о роли взаимодействия гомологичных хромосом и электрического потенциала ядерного генома в регуляции генной активности. Разработаны также практические аспекты прогнозирования гетерозиса в растениеводстве, шелководстве и птицеводстве. Теоретические и прикладные разработки по проблеме гетерозиса позволили В. Г. Шахбазову в 1987 г. возглавить Всесоюзную межотраслевую научную программу "Гетерозис". Существенный вклад внес он в изучение генетики неспецифической устойчивости растений, животных и человека. Установлено, что в проявлении этого признака важнейшую роль играют величина и стабильность ядерных биоэлектрических потенциалов.

В 1968 г. В. Г. Шахбазов выступает с докладом о природе гетерозиса на Международном генетическом конгрессе в Токио. Доклад был встречен хорошо, особый интерес к новому направлению в изучении этой проблемы проявил тогда один из основателей экспериментальной генетики популяций известный американский ученый - выходец с Украины Ф. Добржанский.

С 1968 по 1973 гг. В. Г. Шахбазов руководит отделом биофизики клетки в Институте низких температур НАН Украины. Здесь продолжают исследования устойчивости клеток к действию высокой и низкой экстремальной температуры, изобретается метод повышения устойчивости клеток при криоконсервации. В дальнейшем этот отдел вместе с лабораторией проф. Н. С. Пушкаря стал основой для орга-

низации в Харькове Института проблем криогенной биологии и медицины НАН Украины.

Среди других результатов исследований в области теоретической и прикладной генетики и цитобиофизики следует отметить открытие эффекта снижения радиационного и температурного поражения биологических объектов биоэлектрическими воздействиями, снижение инбредной депрессии под воздействием на родительское поколение магнитных и электромагнитных полей, модифицирующее влияние на степень экзо- и эндогамии растений физических факторов (это было использовано, в частности, при выведении нового сорта и получения ряда перспективных форм овощной фасоли).

Были детально изучены электрокинетические свойства клеточных ядер различных объектов в связи с внешними воздействиями. Как следствие, В. Г. Шахбазовым была сформулирована оригинальная концепция роли тепловых колебаний в биологических преобразованиях энергии, согласно которой структуры хроматина нативного клеточного ядра в активных клетках при "биологической" температуре функционируют как осцилляторы, генерирующие в клетке и за ее пределами электромагнитные и акустические колебания в широком спектре частот. В теоретическом отношении эта гипотеза и экспериментальные исследования В. Г. Шахбазова развивают представления Э. Бауэра, А. Г. Гурвича, И. Я. Пригожина.

Результатом разработки новых методов определения электрокинетических параметров клеточных ядер человека стала серия изобретений. К их числу относятся способы определения биологического возраста чело-

века, степени утомления и работоспособности спортсменов, диагностики и оценки эффективности лечения ряда мультифакторных заболеваний - инфаркта и стенокардии, алкоголизма, интоксикации, лучевой болезни и т. п. Сферой применения новых методик стал широкий спектр отраслей медицины, физиологии труда и спорта. В настоящее время эти методы используются специалистами в области авиакосмической медицины, кардиологии, онкологии, геронтологии и гериатрии и в других областях медицины. Новые методы получили признание в Украине, России, Литве, Польше, Болгарии и других странах. В последнее время интерес к новым методикам и теоретическим концепциям, лежащим в их основе проявляют эксперты Евросоюза и других развитых стран, о чем свидетельствуют отзывы на статьи и доклады, сделанные В. Г. Шахбазовым на международных научных конференциях и симпозиумах.

На кафедре генетики и цитологии, как и прежде, специализируются многие студенты и аспиранты, ведется напряженная творческая учебная и научная работа.

В последние годы В. Г. Шахбазов удостоен почетных званий Заслуженного деятеля науки и техники Украины, Заслуженного профессора Харьковского национального университета, избран академиком Академии наук высшей школы Украины.

Список литературы

1. Арнольди В. М. Северо-Донецкая Биологическая станция Общества испытателей природы при Харьковском университете. Харьков Сергеев. - 1918. - С. 16.
2. Сортоводные станции Сахаротреста. - Киев, 1923. - 234 с.

3. Водяницкий В. А. Записки натуралиста. - М.: Наука, 1975. - С. 22.
4. Качинский В. Перед НЭПом // Вісн. НКЗС. - 1925. - № 3-4. - С. 54.
5. Гос. архив Харьков. обл., ф.р-2792. оп.12. ед.хр. 32. л.1.
6. Гос. архив Харьков. обл., ф.р-2792. оп.12. ед.хр. 32. л.11.
7. Гос. архив Харьков. обл., ф. р-2792, оп.12, ед. хр. 6, л. 1-72
8. Собр. законов и распоряжений рабочекрестьянского Правительства Украины. - 1933. - № 15. - С. 173-174.
9. Харьковский государственный университет. Отчет о научно-исследовательской работе за 1946 г. - Харьков. - 1946. - С. 28.
10. О положении в биологической науке. Стенографический отчет сессии ВАСХНИЛ 31 июля - 7 августа 1948 г. - М.: Сельхозгиз. - 1948. - С.122.
11. Поляков И. М. Выступление // Под знаменем марксизма. - 1939. - № 11. - С. 169- 180.
12. Топчиев А. В. Озброїти радянську молодь знанням передової мічурінської науки // Соц. Харківщина. 17 вересня 1948. - № 187. - С. 1.
13. Корж А. Против низкопоклонства и раболепия перед буржуазной культурой // Красное знамя (Харьков). 21 ноября 1947. - № 233. - С. 1.
14. Гос. архив Харьков. области, ф.р. 2792, оп.7, ед.хр.275, л.1-4
15. Dobzhansky T. Russian genetics // Soviet science. - New York, 1952. - P. 7.

Представлено В. А. Кунахом
Надійшла 11.10.2005 р.

СТОРИНКИ ІСТОРІЇ ГЕНЕТИКИ В УКРАЇНІ ТА
НАУКОВА ШКОЛА В. Г. ШАХБАЗОВА

В. Ф. Чешко

Харківський національний університет
ім. В. Н. Каразіна,
м. Харків, пл. Свободи, 4

Представлено історію формування Харківської наукової генетичної школи (особливо - в період, коли школу очолював В. Г. Шахбазов), яка внесла помітний внесок у вітчизняну та світову науку.

Ключові слова: історія генетики, Харківський університет, В. Г. Шахбазов.

FROM HISTORY OF GENETICS IN UKRAINE.
KHARKIV GENETIC SCIENTIFIC SCHOOL AND
V.G.SHAKHBAZOV

V. T. Cheshko

The Kharkiv Karasin National University
Ukraine, Kharkov, Svoboda square, 4

The history of formation of Kharkiv genetic scientific school (especially in V. Shakhbazov's leadership period), that take the appreciable contribution in development of native science, is considered.

Key words: history of genetics, Kharkov university, V. Shakhbazov.

ПРОФЕСОР Ю.П. МІРЮТА - ВИДАТНИЙ ГЕНЕТИК ВАВІЛОВСЬКОЇ ПЛЕЯДИ ВЧЕНИХ

(ДО 100-РІЧЧЯ З ДНЯ НАРОДЖЕННЯ)

Ф. М. ПАРІЙ

Інститут цукрових буряківУААН
03041 Київ, вул Клінічна, 25

Внесок у генетику Юрія Петровича Мірюти можна узагальнити двома положеннями: ефект Мірюти та закон "Періодична зміна інбридінгу і кросбридінгу". За ними ціле життя, життя сповнене боротьби за генетику, за науку, за істину.

Народився Юрій Петрович Мірюта 25 лютого 1905 р. у с. Мациївка Прилуцького району Чернігівської області в сім'ї сільського вчителя. Навчався в Прилуцькій гімназії. У 1924 році вступив до Уманського сільськогосподарського інституту на садовий факультет. Після його закінчення, в 1927 р. працював у тому ж інституті асистентом кафедри селекції та насінництва. У 1930 р. був обраний доцентом Луганського овочевого інституту по курсу генетики і селекції овочевих рослин. У зв'язку із реорганізацією Луганського інституту перейшов на роботу в Середньо-Азіатський плодовоовочевий інститут на посаду завідуючого кафедри селекції і насінництва.



У 1933 р. Юрій Петрович вступив до аспірантури Весоюзного інституту рослинництва (ВІР) за спеціальністю загальна генетика. ВІР на той час - форпост вітчизняної і світової науки. У ньому панує загальне наукове піднесення та особлива творча атмосфера. На запрошення М. І. Вавилова у ВІРі декілька років працюють видатні американські

генетики Г. Мьоллер, К. Бриджес, К. Офферман, болгарський генетик Д. Костов. Співробітники інституту стажуються в кращих лабораторіях світу. Так, Г. Д. Карпеченко у 1929-31рр. працював у Каліфорнії в Е. Бебкока і у лабораторії Т. Моргана, перед цим був у наукових відрядженнях у Фінляндії, Данії, Германії і Великобританії. У цей період у ВІРІ готуються та виходять у світ три томи "Теоретичні основи селекції рослин". Кожний розділ цього видання відкрито обговорюється на вчених радах. Ось у такій атмосфері проходить навчання в аспірантурі Ю. П. Мірюта. Але тоді ж випробовує свої сили Т.Д. Лисенко в боротьбі проти генетики (перша дискусія 1936 р.).

У 1937 р. Юрій Петрович закінчив аспірантуру і захистив дисертацію з генетики статі у рослин. М. І. Вавілов рекомендував Ю. П. Мірюту в спеціальну аспірантуру (докторантуру) Інституту генетики АН СРСР. В рекомендації він писав: "Я знаю Мирюту, как очень способного работника и уверен, что из него выйдет прекрасный научный работник". Усією своєю науковою діяльністю, громадянською позицією Ю. П. Мірюта довів, що виданий Учителем аванс був повністю реалізований.

У 30-х роках виросло нове покоління генетиків. Це покоління, до якого відноситься і Ю. П. Мірюта, зуміло сприйняти кращі традиції своїх учителів, це те покоління, на плечі якого випаде тягар захисту генетики, війна, події 1948 р. і боротьба за відновлення генетики.

Юрій Петрович відмовляється від докторантури і приймає завідування лабораторією цитології і генетики у Всесоюзному науково-дослідному інституті олійних культур. Тут він ши-

роко розгортає експериментальні дослідження, продовжуючи викладацьку роботу.

Черговий наступ на генетику (друга дискусія 1939 р.) призводить до того, що М. І. Вавилова звільняють із посади директора Інституту генетики АН СРСР, цю посаду займає Т. Д. Лисенко. Далі - арешт М. І. Вавилова. Звістка про арешт застає Юрія Петровича у Горківському державному університеті, де він працює доцентом кафедри генетики. Завідує кафедрою проф. С. С. Четвериков. Обидва розуміють, що на них чекає, коли дізнаються про арешти Г. А. Левіцького, Г. Д. Карпеченка, Л. І. Говорова, про репресії багатьох інших генетиків. Але загуркотіла війна.

Після звільнення України від фашистськи-загарбників Юрій Петрович прибуває до Одеси, де завідує кафедрою селекції та насінництва Одеського сільськогосподарського інституту і працює доцентом Одеського державного університету. В 1947 р. підготував докторську дисертацію на тему: "Генетична сутність гетерозису". На основі вивчення генетичної поведінки чистих ліній, гібридів першого і наступних поколінь арахісу, він встановив, що ці чисті лінії є тетраплоїдними, гетерозиготними за геном забарвлення сходів й іншими ознаками і, разом з тим, навіть за широких масштабів розмноження вони не розщеплюються, тобто є константними. Ю. П. Мірюта показав, що у поліплоїдів чисті лінії можуть бути високогібридними. Константність чистих ліній поліплоїдів пояснюється вибірковою кон'югацією хромосом. При наявності вибіркової кон'югації при редукційному діленні біваленти утворюються виключно як результат кон'югації ідентичних хро-

мосом, які містять однакові алелі. З доброї руки академіка М. П. Дубініна, феномен вибіркової кон'югації ідентичних хромосом у рослин поліплоїдів отримав назву "ефект Мірюти". Розвиток уявлень про гетерозис, викладених Ю. П. Мірютою, дозволив поставити питання про можливість закріплення гетерозису шляхом подвоєння числа хромосом у високогетерозисних гібридів між формами, які відрізняються великою кількістю ознак. Це один із шляхів вирішення проблеми розщеплення у гібридів.

Докторська дисертація була прийнята до захисту вченою радою Інституту генетики і селекції АН УРСР. Офіційні опоненти академік В. Я. Юрь'єв і професор А. І. Купцов дали позитивні відгуки. Але захист уже не міг відбутися. Ішов 1948 рік.

Одержавши підтримку Сталіна "народний академік" Лисенко проводить горезвісну сесію ВАСГНІЛ "Про положення в біологічній науці", яка завершила розгром класичної генетики. Тільки з вищих навчальних закладів було звільнено 127 викладачів, в тому числі 66 професорів. Із Московського університету були звільнені академік І. І. Шмальгаузен, генетики Н. І. Шапіро, С. І. Аліханян, Р. Б. Хесін, із Ленінградського - М. Е. Лобашов, із Горьківського - С. С. Четвериков, із Київського - С. М. Гершензон, Л. М. Делоне, І. М. Поляков, М. М. Гришко. Найнебезпечніших було знищено. Решта повинні були покаятись, визнати свої помилки. Ю. П. Мірюта не визнав "помилку", не зламався, не покаявся - вистояв! А як могло бути інакше, як можна відмовитись від переконань, коли його учитель М. І. Вавілов говорив: "Пойдем на костры, будем гореть, но от убежденный своих не откажемся".

Юрій Петрович залишається без роботи. Щоб заробляти на життя він, за однією легендою, працював вантажником, за іншою - бригадиром у колгоспі. Сам Юрій Петрович, на питання про цей період, ухилявся від прямої відповіді. Згодом він влаштовується на роботу в Інститут генетики і селекції АН УРСР (м. Харків). У 1956 р. цей інститут був реорганізований в Український інститут рослинництва, селекції і генетики. У процесі реорганізації Юрій Петрович створив лабораторію гетерозису, завідування якою було доручено йому. В лабораторії було проведено значну роботу з вивчення ефекту гетерозису в міжсортних, міжлінійних та індивідуальних реципрокних гібридів кукурудзи, розроблено метод індивідуального добору при виведенні самозапилених ліній і гібридів кукурудзи, виявлено наявність природного самозапилення у неї, вивчена рисова кукурудза як вихідний матеріал для гібридизації.

Лисенківцями метод інбридингу та міжлінійної гібридизації не визнавався. Та хіба тільки це не визнавалося! Пройшло півстоліття, а іще не перестаємо обурено і гнівно дивуватися, як таке могло бути. У п'ятидесятих роках минулого століття світовою наукою встановлено структуру ДНК, розшифровано генетичний код, вивчаються молекулярні основи спадковості, а генетику в Радянському Союзі відкинуто назад у середньовіччя. Як могло статися таке потворне, страхітливе, жахливе збочення, сплюндрування науки? Невігластво лисенківців доходить до краю. Види перетворюються з одного в інший, як їм заманеться: пшениця в жито, овес у вівсюг і т. п. Сорти можна створювати "вихованням". А з іншого боку: чому б і ні? "Ба-

тько народів" "виховав" цілий "радянський народ", а тут якісь сорти. Але це в сільському господарстві, де можна все, аби тільки не давати серйозне фінансування на науку. Інша справа - атомна бомба. З настанням атомної ери необхідно було вивчити дію іонізуючого випромінення на спадковість і, в першу чергу, людини, а для цього мічуринські біологи виявилися непридатними.

У 1956 р. президент Академії наук СРСР А. Н. Несміянов особисто санкціонував організацію Лабораторії радіаційної генетики, яку очолив "менделіст-морганіст" М. П. Дубінін, йому ж у 1957 р. пропонують організувати Інститут цитології і генетики (м. Новосибірськ).

Починається період відновлення генетики. М. П. Дубінін запросив у Інститут відомих представників "формальних генетиків, вейсманістів-морганістів": Ю. Я. Керкіса, І. Д. Романова, Д. Ф. Петрова, П. К. Шкварнікова, Д. К. Беляєва, Р. І. Салганіка, А. І. Луткова, Н. А. Плохінського та ін. Серед перших запрошених був і Ю. П. Мірюта.

В Інституті цитології і генетики СВ АН СРСР Ю. П. Мірюта організовує лабораторію гетерозису, в якій проводяться дослідження цитогенетичних основ гетерозису у рослин за трьома напрямками:

1. Закріплення гетерозису шляхом експериментального створення високої гетерогеномності, як константної форми для гібридного стану організмів. Розроблено техніку масового отримання і візуального добору поліплоїдних форм кукурудзи. Отримано і вивчено поліплоїдні ряди різних підвидів кукурудзи.

2. Розробка методів виведення закріплювачів стерильності і відновлю-

вачів фертильності у кукурудзи. У результаті проведених досліджень встановлено, що відновлювачі фертильності і закріплювачі стерильності методом аналізуючих схрещувань можливо виділяти із сортів-популяцій та з інбредних ліній. Таким шляхом виведено відновлювачі фертильності для гібриду Сибірський 4, який створено в лабораторії.

3. Розробляється гіпотеза Ю. П. Мірюти про періодичну зміну інбридінгу і кросбридінгу в рослин. Отримано перші експериментальні дані на користь цієї гіпотези.

На багато розробок, виконаних у лабораторії, отримано авторські свідоцтва на винаходи.

Сибір, який завжди був місцем заслання для багатьох вчених, у цей період забезпечив генетикам свободу творчої думки та наукової діяльності. Але мічуринці дістають "вейсманістів-морганістів" і в Сибіру. Лисенко, який знову намагається спокусити радянське керівництво обіцянками швидких успіхів у створенні ефективних методів піднесення сільського господарства, знаходить шляхи впливу на тодішнього керівника країни М. С. Хрущова. В листопаді 1959 р. М. С. Хрущов наказав зняти з посади директора М. І. Дубініна, як "вейсманіста-морганіста". Інститут шумів, як потривожений вулик. Ю. П. Мірюта був секретарем партійної організації. Саме в цей час він хворів на грип. Пересилюючи слабкість, Юрій Петрович прийшов у інститут. Збори партійної організації, збори колективу, виступи вчених. Всі висловили протест. Але недивлячись на рішучі заперечення партійної організації, академіка М. А. Лаврентьєва і інших вчених, у 1960 р. М. П. Дубініна було знято з посади. Для Юрія Петро-

вичка перенесений "на ногах" грип, нервові перенапруження далися взнаки - він на все життя підірвав здоров'я і змушений був ходити з ковінкою.

Почався важкий п'ятирічний період боротьби за інститут, за його збереження та виживання. Новий директор Д. К. Беляєв у ці тяжкі для інституту часи сказав: "Судьба науки и Института во многом решается в партийных органах. Для них очень важно мнение нашей партийной организации". Юрий Петрович відчував відповідальність за долю інституту, як парторг він формував думку партійної організації. Враховуючи, який вплив в ті часи мала партійна організація на всі сторони життя, у становленні Інституту цитології і генетики велика заслуга і Ю. П. Мірюти.

У 1966 р. Юрію Петровичу без заохисту було присуджено науковий ступінь доктора біологічних наук і у цьому ж році учене звання професора за спеціальністю генетика. А через рік його запросили в Український науково-дослідний інститут землеробства (м. Київ), де він організовує лабораторію генетики. Умови для роботи в інституті були не з кращих. Достатньо сказати, що директором інституту був учень Лисенка, а більшість заступників і "завлабів" були колишніми чиновниками Міністерства сільського господарства та ЦК КПРС, які ще недавно, виконуючи лінію партії, розганяли "вейсманістів-морганістів". Рятував оптимізм і відданість своїй справі. Молодь оточувала Юрія Петровича. У лабораторії навчалося вісім аспірантів. Був запрошений молодий, але вже відомий генетик В. О. Панін. Це ним, за ініціативою М. П. Дубініна, були створені і впроваджені у виробництво високоврожайні триплоїдні гібриди цукрових буряків.

У лабораторії розгортаються роботи з отримання та стабілізації поліплоїдів, вивчення можливості закріплення та підвищення гетерозису в поліплоїдів кукурудзи, цукрових та кормових буряків, конюшини, райграсу та інших культур. Була показана, з використанням маркерних генів, наявність у тетраплоїдів кукурудзи переважаючої кон'югації сестринських хромосом, стабілізація гетерозису, встановлено можливість підвищення продуктивності поліплоїдів за рахунок гетерозису, який визначається поліалельними взаємодіями.

Іншим напрямком, за яким проводили у лабораторії широкомасштабні дослідження, було отримання даних для підтвердження гіпотези про періодичну зміну інбридінгу і кросбридінгу у кукурудзи, озимої та ярової пшениці, зернобобових та інших культур. Досліджували можливість використання механізмів взаємовибірковості запліднення для масового виробництва гібридного насіння, вивчалось успадкування відкритого (хазмогамного) цвітіння у пшениці.

На основі нових експериментальних даних та узагальнення чисельних дослідів професор Ю. П. Мірюта сформулював закон "Періодичної зміни інбридінгу і кросбридінгу за природнього розмноження рослин" і встановив генетичні механізми такої періодичної зміни: гомозиготний стан гаметофітних генів забезпечує за наявності чужого пилку кросбредне потомство, а гетерозиготний стан усіх або більшості гаметофітних генів зумовлює вибірковість родинного за походженням пилку при запиленні і спрямовує розмноження у річище інбридінгу до настання гомозиготності за гаметофітними генами.

Пішов з життя Юрій Петрович несподівано - у 1976 р. не витримало серце під час операції: дались ознаки роки постійної боротьби за генетику.

Професор Ю. П. Мірюта започаткував у СРСР дослідження з генетики гетерозису та систем розмноження рослин і створив новосибірську та київську школи генетиків рослин. Йо-

го учні продовжують ці напрями, ними розроблено понад 60 способів з технології селекційного процесу, створено та впроваджено у виробництво понад 40 сортів та гібридів сільськогосподарських культур. Це є пам'ятником Юрію Петровичу Мірюті - Людині та Вченому.

Валерій Гайович Шахбазов (1925 - 2005)

17 вересня 2005 р. на 81-му році життя пішов за вічну межу видатний український вчений, доктор біологічних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, відмінник освіти України, заслужений професор Харківського національного університету ім. В. Каразіна та Інституту шовківництва УААН, академік Академії наук вищої школи України, заслужений винахідник СРСР, член Президії Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова, член редакційної ради журналу "Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів" Валерій Гайович Шахбазов.

В.Г. Шахбазов народився 19 травня 1925 р. у місті Харкові в родині інтелігентів - його батько Гай Давидович був офіцером, а мати Лахтіна Зінаїда Федорівна - учителькою російської мови і літератури. Після закінчення біологічного факультету Харківського державного університету з 1949 р. працював науковим співробітником відділу екології Інституту біології цього ж університету. Тут він продовжив розпочаті ще в студентські роки під керівництвом відомого зоолога та еколога проф. М. І. Калабухова дослідження з проблем взаємодії генотипу і середовища, вивчав реакцію організмів на вплив зовнішніх екстремальних чинників. У 1948-1949 рр. В. Г. Шахбазов провів дві експедиції в Приморський край, де виявив місця заселення дубових шовкунів. Привезені матеріали широко застосовувались в дослідках в Українській станції шовківництва, Харківському університеті та інших наукових закладах, зокрема, академіком Б. Л. Астауровим в його відомих дослідках з міжвидової гібридизації та андрогенезу.



У 1954 р. після захисту кандидатської дисертації В. Г. Шахбазов був обраний на посаду доцента кафедри дарвінізму і генетики, а у 1966 р., після захисту докторської дисертації на тему "Генетичні та фізіологічні основи гетерозису", - завідувача кафедри генетики і цитології Харківського національного університету ім. В. Каразіна, яку він очолював до 2003 р.

Головним науковим напрямом досліджень професора В. Г. Шахбазова було вивчення природи гетерозису з використанням різноманітних об'єктів - шовкунів, дрозофіли, лабораторних мишей та щурів, багатьох сільськогосподарських рослин. Доповідь з результатів цих досліджень, яку зробив В. Г. Шахбазов у 1968 р. на Х11 Міжнародному генетичному конгресі в Токіо, викликала схвалення провідних генетиків світу.

У подальшому наукову роботу на кафедрі генетики та цитології та у відділі біофізичної генетики у НДІ біології Харківського університету, якими керував професор В. Г. Шахбазов, було сконцентровано на проблемах біофізичної, біохімічної та еколого-фізіологічної генетики. У результаті виконаних досліджень було створено низку винаходів, зокрема, таких як способи визначення біологічного віку людини, ступеня втоми та працездатності спортсменів, діагностики та оцінки ефективності лікування мультифакторних захворювань - Інфаркту та стенокардії, алкоголізму, інтоксикацій, променевої хвороби тощо, які нині широко застосовують у медицині.

Професор В. Г. Шахбазов опублікував понад 500 наукових праць, зокрема 5 монографій, отримав понад 30 авторських свідоцтв та патентів на винаходи. Одним із видань його основ-

них наукових праць є надрукована до 75-річного ювілею професора В.Г. Шахбазова книга "Экологическая и биофизическая генетика. Избранные труды", Харків, Штрих, 2001; 436 с.

Валерій Гайович Шахбазов був талановитою, всебічно обдарованою людиною, Людиною з великої літери. Він мав поетичний хист і філософське мислення, завжди займав активну громадянську позицію - писав вірші та поеми, статті з філософії, політики, історії науки. Був одним із засновників Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова, усі роки з 1967 р., обирався членом Президії товариства, був його віцепрезидентом. До нього завжди тягнулась млодь, а він мав дар знаходити і всіляко підтримувати обдарованих і талановитих. Під його керівництвом підготовлено та захищено 5 докторських та понад 40 кандидатських дисертацій. Його учні працюють в Україні, Росії, Білорусії, Великобританії, США, Сирії, Єгипті, Болгарії.

Закінчив свій життєвий шлях професор В. Г. Шахбазов на злеті, так, як прожив усе своє життя - під час короткої перерви в роботі міжнародного наукового форуму.

Світла пам'ять про Валерія Гайовича Шахбазова, який належить до славетного і багатостраждального покоління українських генетиків - талановитого вченого, скромну, чуйну, глибоко порядну та інтелігентну людину - назавжди збережеться у наших серцях.

*Президія Українського товариства
генетиків і селекціонерів
ім. М.І. Вавилова
Редакційна колегія журналу
"Вісник Українського
товариства генетиків і селекціонерів"*

ПРОБЛЕМИ ЕКОГЕНЕТИКИ В УКРАЇНІ

І. Р. БАРИЛЯК

18-21 лютого 2005 року в м. Яремче Івано-Франківської області відбулася науково-практична конференція "Проблеми екогенетики в Україні", організована Українським товариством генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова та Науковим центром радіаційної медицини АМН України.

У роботі конференції взяли участь провідні фахівці з питань індукованого мутагенезу та популяційної генетики, молоді вчені з Києва, Львова, Дніпропетровська.

В рамках конференції підведено підсумки вивчення проблеми екогенетики та намічені перспективи розвитку цього напрямку. Зокрема, відмічено, що екогенетикою останнім часом займаються значно меншою мірою, ніж це було 10 років тому, менше стало експериментальних досліджень з вивчення мутагенної активності різних чинників навколишнього середовища, з цією метою здебільшого використовуються менші батареї тестів (особливо мало робіт проводиться на експериментальних тваринах).

Разом з тим, враховуючи складну екологічну ситуацію, що має місце в Україні, створюються комп'ютерні бази даних як спадкових захворювань, так і мутагенних чинників (І. Р. Барилляк, Київ), ширше впроваджуються та використовуються екологічні індикатори як інструмент управління станом довкілля (О. М. Дуган, Київ).

Професор Л. Є. Ковальчук (Івано-Франківськ) поділилася досвідом проведення генетичного моніторингу в Івано-Франківській області, навила дані про мутагенне забруднення різних районів Прикарпаття, стан генетичного здоров'я населення, показала можливість використання трансгенних рослин як об'єкту для визначення інтенсивності мутагенного фону довкілля.

Співробітники кафедри біології Івано-Франківської медичної академії З. Р. Кочерга та Р. В. Козовій доповіли про медичні та цитогенетичні наслідки катастрофи на Чорнобильській АЕС у дітей контрольованих районів області. Було встановлено динаміку генетичного тягаря окремих популяцій за позитивними і негативними індикаторами здоров'я населення, а також за показниками функціонального стану геному, мікроядер-

ного тесту, частотою хромосомних аберацій та асоціацій акроцентричних хромосом у соматичних клітинах дітей. Впроваджено новий тест-об'єкт - трансгенні лінії *Arabidopsis thaliana*, які дали можливість об'єктивно відобразити гено-цитотоксичність довкілля, зумовлену хімічними і радіаційними чинниками. Автори проаналізували ефективність профілактики вроджених вад розвитку при застосуванні фолієвої кислоти та природних адаптогенів. Правда, для широкого та остаточного висновку у авторів ще недостатньо спостережень.

У цьому напрямі привернула увагу доповідь співробітників Львівського національного університету ім. І. Франка Л. С. Боднар та О. М. Ревеги, які продемонстрували ефективність застосування природних сорбентів для зменшення мутагенних фонів рідких токсичних стоків з підприємств різних галузей промисловості. Можливість корекції мутагенних фонів питної води проілюструвала А. В. Фединяк і співав. (Львів, Київ).

О. І. Яловенко (Київ) проаналізувала проблеми використання альтернативних тест-систем в еколого-гігієнічних дослідженнях, зокрема, виробів косметичної промисловості. Т. П. Лисовська (Луцьк) поділилася досвідом визначення генетичної активності пестицидів. В. І. Ступар (Івано-Франківськ) навів результати власних досліджень генетичних ресурсів лісів Карпатського регіону і прилеглих територій.

Таким чином, у наведених доповідях певною мірою узагальнено експериментальні дані вивчення мутагенності чинників навколишнього середовища, впровадження середників, здатних корегувати мутагенний фон.

Великий інтерес в учасників викликала доповідь Н. І. Кіцери (Львів), яка провела детальне дослідження вроджених вад розвитку серед сибсів пробандів з гострою лейкемією. А. Н. О. Зимаєк (Хмельницький) показала частоту і структуру вроджених вад розвитку серця за даними генетичного моніторингу в Хмельницькій області. Використовуючи методичні підходи, опрацьовані на підставі Українсько-американської програми запобігання вродженим вадам розвитку, комп'ютерної бази даних, верифікації кожного випадку вади, автору вдалося показати динаміку частоти досліджуваної патології, вклад генетичних чинників у реалізації її окремих видів та можливість її попередження.

Цікавою і пізнавальною, на думку учасників конференції, була доповідь В. А. Кунаха (Київ), присвячена сучасним біотехнологіям отримання лікарських препаратів з екологічно чистої біомаси культивованих *in vitro* клітин рослин. Деякі з них вже застосовуються як адаптогени, радіопротектори і генопротектори.

У рамках конференції учасники ознайомилися з діяльністю обласних осередків Українського товариства генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова.

Конференція прийняла резолюцію, в якій рекомендує значно розширити наукові дослідження з екогенетики, причому бажано комплексувати такі роботи з провідними спеціалістами у цій галузі.

Схвалити досвід Українсько-американської програми запобігання вродженим вадам розвитку, використовувати світовий досвід створення баз даних дітей з вродженими вадами розвитку та впроваджувати профілактичні заходи щодо цієї патології.

© Українське товариство генетиків і селекціонерів, 2005

Комп'ютерна верстка Пазич Олена
ТОВ "Тенар"
03037, м. Київ, вул. Освіти, 22/8
тел. 249-79-09

Підписано до друку 01.12.05 Формат
70x100 1/16. Гарнітура Прагматика,
папір офсет. №1. Друк офсет. Ум друк.
арк. 10.0. Обл. — вид. арк. 11.76.
Наклад 300 прим. Зам. № 5-2148

ВІСНИК

УКРАЇНСЬКОГО ТОВАРИСТВА
ГЕНЕТИКІВ І СЕЛЕКЦІОНЕРІВ

ISSN 1810-7834. ВІСН. УКР. ТОВ-ВА ГЕНЕТИКІВ І СЕЛЕКЦІОНЕРІВ, 2005, Том 3, № 1-2

