

5. Кумаков В.А. Некоторые проблемы физиологии в связи с селекцией на продуктивность // Физиолого-генетические основы повышения продуктивности зерновых культур. – М.: Колос, 1975. – С. 63–70.
6. Фолтын Й. Модель сорта (идеотип) пшеницы // Международный сельскохозяйственный журнал. – 1980. – №2. – С. 54–57.
7. Писаренко В.А., Кококвіхін С.В., Писаренко П.В., Михаленко І.В. Кореляційно-регресійне моделювання врожайності середньопізніх гібридів кукурудзи в умовах зрошення // Зрошуване землеробство. – 2008. – Вип. 49. – С. 189–194.
8. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований): 5-е изд., доп. и переработано. – М.: Агропромиздат, 1985. – 351 с.
9. Унифицированные методы селекции кукурузы. – Днепропетровск, 1976. – 59 с.
10. Методические рекомендации по проведению опытов с кукурузой. – Днепропетровск, 1980. – 54 с.
11. Рокицкий П.Ф. Введение в статистическую генетику. – Минск: «Высшая школа», 1974. – 448 с.

VOZHEGOVA R.A., LAVRINENKO J.O., LASHINA M.V.

Institute of Irrigating Agriculture NAAS

Ukraine, 73483, Kherson, Naddneprianskoe, e-mail: lavrin52@mail.ru

DEVELOPMENT OF MORPHOLOGICAL AND BIOLOGICAL MODELS OF MAIZE HYBRIDS OF DIFFERENT MATURITY GROUPS UNDER IRRIGATION

Aims. Development and clarification of morphological models of hybrids of corn for the of irrigation south of Ukraine. **Methods.** Genetic and statistical analysis of selection numbers of hybrids of corn. **Results.** The article presents data on the development and refinement of morphological models maize hybrids of different maturity groups. The models developed corn hybrids will effectively lead work on a new raw material of corn with desired properties and the appropriate level of implementation of hybrid combinations that enhance the effectiveness of selection process of synthesis of a new generation of hybrid and rapid implementation in agricultural production. **Conclusions.** For the terms of irrigation of south of Ukraine different models of hybrids of corn of the FAO 150–600 groups are developed.

Key words: maize, hybrid model, yield of grain, plant height, irrigation.

ГОРДЕЙ И.С., БЕЛЬКО Н.Б., ГОРДЕЙ И.А.

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»

Республика Беларусь, 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: I_Gordej777@mail.ru

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ДУПЛИКАЦИИ ГЕНОМА У РЖИ (SECALE CEREALE L.)

Дупликация генома (полиплоидия) – больше, чем простое удвоение генома. Она включает комплекс молекулярно-генетических процессов, ведущих к геномным перестройкам [1–3]: геномные перегруппировки, обмен между геномами, рекомбинации между хромосомами; дифференциальная элиминация генов дублированного генома; дифференциация гена – приобретение геном новой функции на основе избыточности ДНК, функциональное расхождение генов; перегруппировка последовательностей ДНК, метилирование ДНК; изменение структуры хроматина, активация ретротранспозонов, вызывающих транслокации хромосом; эпигенетическое замолкание генов после дублирования и пространственная реорганизация хромосом в интерфазном ядре, обуславливающее изменение эпигенетического контроля экспрессии генов –

важнейшие факторы полиплоидной эволюции.

Известно, что у полиплоидов в профазе первого деления мейоза, как правило, образуются мультивалентные комплексы хромосом в отличие от бивалентных комплексов у диплоидов. При этом нарушается кроссинговер между гомологичными хромосомами и распределение хромосом по дочерним клеткам. Нарушения конъюгации хромосом в мейозе могут явиться причиной их структурных изменений – дупликации, делеции, транслокации или инверсии отдельных участков хромосом. Показано, что у модельных полиплоидов наблюдаются быстрые потери одних генов и специфическая инактивация других за счет метилирования [4]. В настоящее время не вызывает сомнений влияние пространственной организации хромосом в ядре на регуляторную функцию генов в развитии. Воп-

рос о пространственном положении генетического материала в интерфазном ядре эукариотической клетки в последнее время приобретает особое значение, так как рассматривается в свете эпигенетического контроля экспрессии генов [5].

Эти и другие изменения генетического

Материалы и методы

Материалом исследований служили диплоидные сорта и гибриды (RR, $2x=14$) и созданные на их основе тетраплоидные формы (RRRR, $4x=28$) озимой ржи (*Secale cereale* L.). Тетраплоидные формы ржи получены в лаборатории цитогеномики растений Института генетики и цитологии НАН Беларуси с использованием усовершенствованного метода дубликации генома растений в первом делении зиготы закисью азота (N_2O) [6]. Цитологический анализ числа хромосом, ключевых этапов микроспорогенеза проводили на давленных препаратах апикальных меристем корня и пыльников, окрашенных 2 %-м раствором ацетокармина в 45 %-й уксусной кислоте под микроскопом Leica DMRXA2.

Хромосомный состав ди- и тетраплоидных

Результаты и обсуждение

Принимая во внимание повышенный уровень геномной нестабильности вновь созданных тетраплоидов и его влияние на их общую продуктивность, проведено изучение хромосомного состава тетраплоидных форм и исходных диплоидных сортов озимой ржи. Результаты цитологического анализа тетраплоидных форм ржи показали относительно низкий уровень формирования (до 8,1 %) анеуплоидных растений в популяциях тетраформ, что свидетельствует об эффективности дубликации генома ржи в первом делении зиготы.

Выявленные анеуплоиды были представлены в основном 27-хромосомными гипотетраплоидами. Количество их у разных тетраформ ржи было различным и варьировало в интервале 0–8,1 %. Наибольшее количество 27-хромосомных растений (8,1 %) выщепилось в потомстве тетраплоидной формы ржи Плиса. У тетраплоидной ржи Юбилейная гипотетраплоидные растения отсутствовали.

Формирование гипертетраплоидных растений (28 хромосом + фрагмент хромосомы) отмечено в 3,3 % случаев у тетраплоидных форм Зарница и Плиса.

Из исследованных тетраформ озимой ржи наибольшей стабильностью хромосомного состава характеризовалась тетраформа Юбилейная,

аппарата при дубликации генома вызывают наследственно обусловленные разнообразные проявления ботанико-морфологических, анатомических, молекулярно-генетических, цитологических, физиологических, биохимических и других признаков и свойств растений.

форм анализировали с применением модифицированного C-метода дифференциального окрашивания хромосом ржи (C-бэндинг).

Электрофорез запасных белков семян (секалинов) проводили в полиакриламидном геле в вертикальных пластинах электрофоретической камеры «VE-4М», производства ООО «Биоклон» пометодическим указанием ВИР.

Специфичность геномов диплоидной и тетраплоидной озимой ржи на уровне ДНК устанавливали методом ПЦР с произвольными праймерами (RAPD-анализ). ДНК выделяли с помощью Genomic DNA Purification Kit фирмы Fermentas. В качестве маркера молекулярного веса использовали 100 bpDNA Ladder Plus (Fermentas).

тогда как тетраформа Плиса содержала максимальное количество анеуплоидных растений.

Образование анеуплоидных и клеток иных уровней ploidy у экспериментально полученных тетраплоидов связано с «реверсией ploidy», обусловленной значительными нарушениями в мейозе.

В целом нарушения мейоза, наблюдаемые в материнских клетках микроспор в первом и втором мейотических делениях у тетраплоидных форм и диплоидных сортов, были аналогичными. Однако у тетраплоидов мейоз протекал со значительно большими нарушениями (табл. 1).

Проведенные исследования показали, что у тетраплоидных форм озимой ржи среди хромосомных ассоциаций преобладали биваленты. Помимо бивалентов, со значительной частотой встречались уни-, три- и квадριваленты, число которых на клетку варьирует.

У полученных тетраплоидов в отличие от диплоидной ржи в метафазе I достаточно часто (от 7,9 до 19,2 %) встречались микроспороциты с унивалентными хромосомами. Частота МКП с унивалентными хромосомами у диплоидных форм на стадии метафазы I составила 1,2–3,3 %.

В анафазе I в среднем количество МКП с нарушениями у тетраплоидных форм составило

9,9 %, у диплоидных – 1,8 %. Наиболее типичным нарушением для этой стадии мейоза является образование анафазных мостов.

Во втором мейотическом делении нарушения встречались чаще, чем в первом, и частота их была достоверно ($P < 0,05$) выше у тетраплоидов, в сравнении с соответствующими стадиями мейоза у диплоидной ржи. В среднем в

метафазе II у тетраплоидных форм количество аномальных МКП составило 22,2 %. У диплоидных форм этот показатель на данной стадии составлял 1,5 %. В анафазе II количество МКП с нарушениями у тетраплоидных форм находилось на уровне 19,1 %. У диплоидных форм этот показатель составлял 2,4 %.

Таблица 1. Частота нарушений по стадиям мейоза у тетраплоидных форм и исходных диплоидных сортов ржи, %

| Сорта и формы | Метафаза I | Анафаза I | Метафаза II | Анафаза II | Тетрады |
|-----------------------------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| Тетраплоидные формы (RRRR, 2n=28) | | | | | |
| Плиса-тетра | 10,4 | 5,8 | 26,9 | 24,6 | 18,3 |
| Юбилейная-тетра | 7,9 | 8,5 | 13,1 | 15,0 | 8,3 |
| Зарница-тетра | 11,8 | 9,0 | 23,4 | 23,4 | 20,7 |
| Алькора-тетра | 19,2 | 16,7 | 32,8 | 21,2 | 13,3 |
| Среднее | 11,7* | 9,9* | 22,2* | 19,1* | 14,0* |
| Диплоидные сорта (RR, 2n=14) | | | | | |
| Плиса | 3,1 | 1,7 | 1,6 | 2,1 | 0,9 |
| Юбилейная | 2,5 | 2,2 | 1,2 | 2,9 | 0,5 |
| Зарница | 3,3 | 1,8 | 1,1 | 2,5 | 1,0 |
| Алькора | 1,2 | 1,6 | 1,9 | 2,1 | 0,7 |
| Среднее | 2,5 | 1,8 | 1,5 | 2,4 | 3,1 |

Примечание. Различия достоверны при $P < 0,05$.

По мнению ряда авторов [7, 8] удвоение хромосом приводит к нарушению тонко сбалансированной системы взаимодействия генов контроля мейоза у диплоидных растений. В настоящее время картировано ряд мейотических мутаций (sy1, sy9, sy10, sy18, sy19), контролирующих отдельные этапы процесса мейоза у озимой ржи.

С целью изучения сбалансированности кариотипов 28-хромосомных растений озимой ржи и выявления возможных хромосомных пе-

рестроек, вызванных дупликацией генома, проведен сравнительный анализ кариотипов созданных тетраплоидов с исходными диплоидными сортами с использованием С-метода дифференциального окрашивания хромосом.

Установлено, что включенные в анализ 28-хромосомные растения являлись геномно сбалансированными тетраплоидами (RRRR, $4x=28$) и не содержали видимых структурных изменений хромосом (рис. 1).

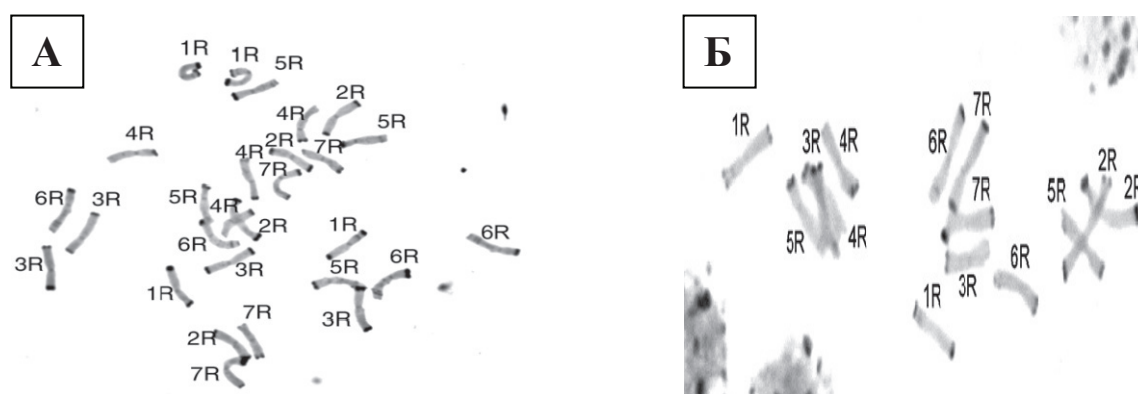


Рис. 1. Кариотипы тетра (А)- и исходной диплоидной (Б) форм озимой ржи Алькора

Для выявления различий в экспрессии генетических систем геномов новых тетраплоидных форм озимой ржи в сравнении с исходными

диплоидными сортами проведен электрофорез запасных белков секалинов семян.

У изученных генотипов ржи идентифици-

ровано 66 типов спектра секалина зерновок, неравномерно распределенных среди диплоидных сортов и тетраплоидных форм: от 7 до 19 в зависимости от сорта и тетраформы, для каждого из которых характерен специфический состав (табл. 2).

Наибольшей изменчивости подвержены компоненты щ-зоны. У ряда генотипов отмечена элиминация компонентов щ 7, щ 11, щ 12, проявление щ1 и щ 6. В в-зоне часто происходит элиминация компонентов в 1, в 2 и в 3.

Сравнение ЭФ-спектров секалина показало,

что у тетраплоидных форм внутрисортной полиморфизм значительно шире и достигает 10–19, у исходных диплоидных сортов – от 7 до 10 типов спектра. В электрофоретическом спектре секалина большинства тетраплоидных генотипов появляются г4 и г5 компоненты, отсутствующие у исходных диплоидных сортов, а компонент г1, присущий исходному диплоидному гибриду, может быть элиминирован у полученного тетраплоида. У ряда тетраплоидов наблюдается появление в ЭФ-спектре компонентов щ1213, не выявленных у исходных диплоидов.

Таблица 2. Состав и интенсивность компонентов секалина у исходных диплоидных сортов и тетраплоидных форм озимой ржи

| Диплоидные сорта и тетраплоидные формы | Состав и интенсивность полипептидов секалина | | |
|--|--|-------------|-------------------|
| | В | Г | Щ |
| Зарница (RRRR, 2n=28) | <u>12345</u> | <u>45</u> | 2345 78910111213 |
| Зарница(RR, 2n=14) | <u>2345</u> | <u>5</u> | 234 7891011 |
| Юбилейная(RRRR, 2n=28) | <u>12345</u> | <u>1 45</u> | 123456789101112 |
| Юбилейная (RR, 2n =14) | <u>2345</u> | <u>5</u> | 234 78 1011 |
| Алькора (RRRR, 2n=28) | <u>2345</u> | <u>5</u> | 1234 67891011 |
| Алькора(RR, 2n =14) | <u>2345</u> | <u>1</u> | 1234 7891011 |
| Плиса (RRRR, 2n=28) | <u>2345</u> | | 1234 678910111213 |
| Плиса (RR, 2n =14) | <u>2345</u> | | 234 7891011 |

Для выявления изменений на уровне ДНК, произошедших в результате дупликации генома, проведен RAPD-анализ ДНК тетраплоидных форм и исходных диплоидных сортов озимой ржи.

С использованием RAPD-метода у исследуемых сортов и форм ди- и тетраплоидной ржи выявлено по 66 фрагментов ДНК соответственно. Число амплифицированных фрагментов ДНК (ампликонов) в суммарной выборке растений варьировало от 6 до 12 в зависимости от праймера, их размер составлял от 300 до 3000 п.н. Из 8 праймеров наиболее эффективными для озимой ржи оказались ОРА 5 и Р 36. На рис. 2 представлен спектр амплифицированных фрагментов ДНК растений ди- и тетраплоидной ржи с использованием праймера ОРА 5.

В изученных ди- и тетраплоидных популяциях выявлено 10 и 11 фрагментов ДНК соот-

ветственно. Электрофоретический анализ амплифицируемых фрагментов ДНК созданных тетраплоидов в сравнении с их исходными диплоидными сортами выявил в спектрах существенные различия в 70 % случаев. У тетраплоидов в 25 % спектрах обнаружено появление 1–3 фрагмента ДНК размером от 300 до 4000 п.н., отсутствующих у исходных диплоидных сортов. RAPD-анализ выявил у тетраплоидов потерю (20 %) или одновременно потерю и появление (30 %) отдельных полиморфных фрагментов ДНК. Чаще элиминировали фрагменты ДНК размером от 700 до 1700 п.н. Полученные результаты свидетельствуют об изменениях генома ржи при дупликации, которые обусловлены структурными изменениями ДНК, дифференциальной элиминацией и диферсификацией генов, перегруппировкой последовательностей, метилированием ДНК и блочными перестройками.

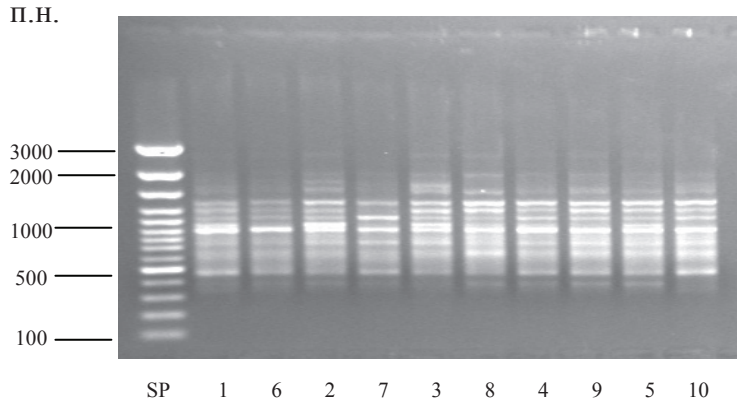


Рис. 2. RAPD-спектр амплифицированных фрагментов ДНК растений ди- (1 – Алькора, 2 – Плиса, 3 – Зарница, 4 – Юбилейная, 5 – Заречанская зеленоукозная) и тетраплоидной (6 – Алькора-тетра, 7 – Плиса тетра, 8 – Зарница-тетра, 9 – Юбилейная-тетра, 10 – Заречанская зеленоукозная-тетра) озимой ржи, полученный с использованием праймера ОРА 5

Примечание. SP – фрагменты ДНК с известным числом пар оснований.

Выводы

1. Индуцированные с использованием закиси азота (N_2O) 28-хромосомные растения озимой ржи являются геномно сбалансированными тетраплоидами (RRRR, $4x=28$) и не содержат видимых структурных изменений хромосом.

2. В ранних поколениях (N_2-N_3) аутотетраплоидов озимой ржи, индуцированных закисью азота (N_2O), выявлена достоверно ($P<0,05$) более высокая частота нарушений мейоза по сравнению с исходными диплоидами, что связано с нарушением тонко сбалансированной у диплоидов генетической системы контроля мейоза.

3. Дупликация генома у ржи может приво-

дить к элиминации отдельных компонентов секалина, присущих исходным диплоидным сортам и проявлению новых компонентов, не выявленных у исходных сортов, что обусловлено изменениями экспрессии дублированных генов.

4. RAPD-анализ полиморфизма ядерной ДНК у тетраплоидных форм и исходных диплоидных сортов озимой ржи выявил существенные различия в их электрофоретических спектрах, связанные как с появлением, так и элиминацией отдельных фрагментов ДНК, что свидетельствует о структурных изменениях ДНК при дупликации генома ржи

Литература

1. Жуковский П.М. Эволюция культурных растений на основе полиплоидии // Полиплоидия и селекция. – Москва-Ленинград, 1963. – С. 5–10.
2. Adams, K.L., Wendel J.F. Polyploidy and genome evolution in plants // Curr. Opin. PlantBiol. – 2005. – V. 8. – P. 135–141.
3. Wendel, J. Genome evolution in plants // Plant. mol. Boil. – 2000. – P. 225–249.
4. Adams, K.L., Percifield R., Wendel J. Organ-specific silencing of duplicated genes in a new synthesized cotton allotetraploid // Genetics. – 2004. – №168. – P. 2217–2226.
5. Стегний В.Н. Пространственная организация хромосом в ядре. Эпигенетические и эволюционные аспекты // Факторы экспериментальной эволюции организмов: сб. науч. ст. – К.: Логос, 2011. – Т. 10. – С. 73–78.
6. Белько Н.Б., Гордей И.С., Гордей И.А. Методические рекомендации по полиплоидизации (дупликация генома) ржи (*S. cereale* L.) с использованием закиси азота (N_2O) // Институт генетики и цитологии НАН Беларуси. – Минск: Право и экономика, 2012. – 28 с.
7. Соснихина С.П., Федотова Ю.С., Смирнов В.Г., Михайлова Е.И., Богданов Ю.Ф. Изучение генетического контроля мейоза у ржи // Генетика. – 1994. – Т. 30. – С. 1043–1056.
8. Национальный Интернет-портал РФФИ [Электронный ресурс] / Книги, изданные при поддержке РФФИ – Режим доступа: <http://www.rfbr.ru/old/pub/knigi/janus/golub.htm>. – Дата доступа: 12.03.2010.

GORDEI I.S., BELKO N.B., GORDEI I.A.

*Institute of Genetics and Cytology of NAS of Belarus,
Belarus, 220072, Minsk, Akademicheskaya str., 27, e-mail: I_Gordej777@mail.ru*

THE MOLECULAR-GENETIC EFFECTS OF GENOME DUPLICATION IN WINTER RYE (SECALE CEREALE L.)

Aims. Studying of the molecular-genetic effects of genome duplication in winter rye on cellular, protein and DNA levels. **Methods.** Cytologic analysis of the chromosome number, the microsporogenesis, karyotype analysis with use C-banding, electrophoresis of the storage proteins - secalins, PCR-analysis with random primers (RAPD). **Results.** Duplication of the chromosome number in winter rye accompanied by a significant infringements of the microsporogenesis process, changes in the spectrum of amplified DNA fragments and the spectra of species-specific proteins of seeds (secalins). **Conclusions.** Duplication of the genome in rye leads to multiple molecular genetic effects on cellular, protein and DNA levels, due to an infringement of a balanced genetic system of meiosis control in diploid plants, gene expression changes in species-specific seed proteins and structural changes in DNA as a result of duplication.

Key words: winter rye, genome duplication, chromosomes, DNA, aneuploidy, meiosis, polymorphism, electrophoresis, PCR-analysis.

ГОРШКОВА Л.М.¹, БОГДАНОВА А.С.¹, ВИРОВЕЦЬ В.Г.²

¹ Глухівський національний педагогічний університет імені Олександра Довженка
Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул. Києво-Московська, 24, e-mail: kafbiol@mail.ru

² Дослідна станція луб'яних культур Інституту сільського господарства Північного Сходу НААН
Україна, 41400, Сумська обл., м. Глухів, вул. Терещенків, 45, e-mail: ibc@sm.ukrtel.net

УСПАДКУВАННЯ МОРФОЛОГІЧНИХ ОЗНАК ЗАЛОЗИСТИХ ВОЛОСКІВ У ПОТОМСТВІ

Порівняно з фундаментальною інформацією щодо хімії компонентів маріхуани (гашиш) відмічено недостатні наукові повідомлення про залозисту систему, властивості залоз у сучасних сортів конопель.

Особливої уваги заслуговує вивчення успадкування морфологічних ознак залозистих волосків у потомстві, оскільки пізнання природи цих явищ представляє велику наукову і практичну цінність в селекційній роботі на зниження каннабіноїдних сполук.

Перш за все нами встановлено, що залози відрізняються характерною структурою – складаються із голівки, ніжки (стебельця) і без них. Диск багатьох клітин вкритий секреторним про-

дуктом. Мікроскопічний опис та хроматографічний аналіз показали, що на вегетативних та генеративних органах конопель містяться різноманітні типи залозистих і незалозистих епідермальних відростків.

Залозисті волоски на відміну від цистолітових містили терпено-фенольні сполуки, що отримали назву каннабіноїдів, які володіють певною психотоміметичною активністю і включають основну психоактивну сполуку Δ^9 - тетрагідроканнабінол плюс Δ^8 – тетрагідроканнабінол та споріднені з ними сполуки – каннабінол (КБН), каннабідіол (КБН), каннабіхромен (КБХ) та інші[2].

Матеріали і методи

З метою випрішення поставлених питань були використані сорти дводомних і однодомних сортів конопель – Глухівські 10 та ЮСО-29.

У перший рік було закладено два розсадники гібридизації.

У батьківських форм, що використовувались у гібридизації, одночасно відбирали зразки для вивчення вмісту каннабіноїдних сполук та морфологічного опису залозистих волосків. З

цією метою рослини етикетувалися і нумерувалися.

Мікроскопічний опис морфології залозистих волосків проводили на стереоскопічному мікроскопі МБС-10. для визначення вмісту каннабіноїдних речовин застосовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ). Кількісне визначення каннабіноїдів проводили на газорідному хроматографі типу Hewlett Packard 5830A.