

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.

Таблиця 1. Схема схрещування

Батьківські форми, які беруть участь у схрещуванні	Вміст каннабіноїдів (бали)			
	КБД	ТГК	КБН	КБДК
Максимум / мінімум				
Глухівські 10 / ЮСО-29	4	10	3	3
	0	0	0	слабі сліди
Мінімум / максимум				
Глухівські 10 / ЮСО-29	0	0	0	4
	4	10	4	5
Максимум / максимум				
Глухівські 10 / ЮСО-29	4	10	4	5
	4	10	4	5
Мінімум / мінімум				
Глухівські 10 / ЮСО-29	0	0	0	4
	0	0	0	слабі сліди

Скляні колонки були заповнені 5 % OV-101 на Chromosorb WAN-DMCS (80–100 меш). Вміст каннабіноїдів у кожному зразку визначався за допомогою інтегратора марки Hewlett

Packard 3380A. Внутрішнім стандартом був метиловий ефір стеаринової кислоти C19H38O2 [1, 2].

Результати та обговорення

Морфологічний аналіз вихідних материнських і баківських форм конопель у F₀ покоління

дозволив встановити тип і групу залозистих волосків, які беруть участь у схрещуванні (табл. 2).

Таблиця 2. Характеристика материнських і батьківських форм за морфологічними ознаками залозистих волосків, розташованих на оцвітинах (кількість рослин у %)

Схема схрещування	Глухівські 10 – материнські особини			ЮСО-29 – батьківські особини				
	Тип і група залозистих волосків							
	Головчато-стебельчасті			Залозисті волоски відсутні	Головчато-стебельчасті			Залозисті волоски відсутні
	«а»	«б»	«в»		«а»	«б»	«в»	
Максимум / мінімум	70,0	–	30,0	–	25,0	–	–	75,0
Мінімум / максимум	44,4	–	55,5	–	83,3	–	–	16,7
Мінімум / мінімум	11,7	–	88,3	–	22,2	–	–	77,8
Максимум / максимум	75,0	–	25,0	–	87,5	–	–	12,5

На дозрілих, добре сформованих оцвітниках відмічали значну кількість волосків залозистого і цистолітового типів. У середньому на один криючий волосок припадає 3–4 волосків залозистого типів. Нами описано декілька типів залоз: головчато-прикріплені, головчато-стебельчасті і цибулиноподібні. На рис. 1 приведена класифікація залозистих волосків.

Мікроскопічний аналіз оцвітчини показав, що на випуклих місцях оцвітин першими з'явилися волоски без ніжок, прикріплені до поверхні – «сидячи», які відрізнялися між собою за розміром голівок.

У середньому розмір голівок складав 0,55–0,70 мм.

Забарвлення залоз варіювало від білого до

жовтого і прозорого (рис. 1). Числені перегляди оцвітин показали, що ми зіткнулися з декількома групами головчато-стебельчастих залоз, які розрізняються між собою за формою, величиною і кольором голівок, а також за висотою і формою ніжок (стебелець), тобто вони не уклались в існуючу класифікацію за С. Hammand, P. Machlberg [3]. Ми виділили декілька інших груп і дали їм назви – головчато-стебельчасті волоски групи «а» і «в». Група «а» – головчато-стебельчасті залозисті волоски цієї групи мали

довгі ніжки з маленькими голівками, які в окремих випадках ледве виступали над ніжками.

Розмір голівок у діаметрі складав 0,3–0,4 мм, довжини ніжок – 1,5–2,5 мм. На достиглій оцвітині вони були світло-жовтого або коричневого кольору (рис. 1).

Група «в» – головчато-стебельчасті залозисті волоски мали крупні кулясті голівки білого кольору 0,5–0,7 мм. Ніжки світло-коричневого кольору середньої висоти – 1,5–1,6 мм (рис. 1).

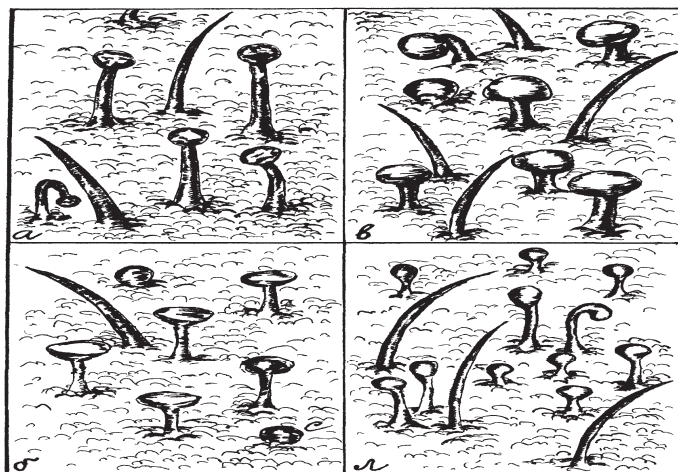


Рис.1. Класифікація залозистих волосків рослин конопель: «а», «б», «в» – головчато-стебельчасті, «с» – головчато-прикріплені, «л» – цибулиноподібні

Цибулеподібні залозисті волоски, які описані С. Hammand, P.Machlberg [3] були найдрібнішими у порівнянні з вищеописаними. Діаметр голівок складав 0,1–0,2 мм, висота ніжок 0,15–0,20 мм. Голівки частіше за все мали коричневий колір, ніжки були зеленого або жовто-зеленого кольору, цибулеподібні залози завжди розташовувалися між іншими волосками. Самостійно не покривали оцвітину і дрібне листя суцвіття (рис. 1).

Аналіз одиничних рослин показав, що у основної маси рослин оцвітина покривалася головчато-стебельчастими волосками всіх перерахованих груп. Цибулеподібні залозисті волоски зустрічалися досить рідко.

Описані залози, що відрізнялися за морфологічними ознаками були дійсно пов'язані з вмістом каннабіноїдних речовин і особливо з вмістом ТГК (табл. 3).

Таблиця 3. Залежність між морфологічними ознаками залозистих волосків і вмістом каннабіноїдних речовин (оцвітини) ГРХ

Номер сім'ї	Номер рослини	Кількість головчато-стебельчастих волосків на 1 мм ² , штук		Склад каннабіноїдів (%)		
		Група «в»	Група «а»	КБД	ТГК	КБН
ЮСО-29						
348	150	нема	нема	0,0	0,0	0,0
356	431	нема	нема	0,0	0,0	0,0
356	435	нема	нема	0,0	0,0	0,0
346	133	нема	нема	0,0	0,0	0,0
346	131	0	0,88	1,699	1,820	1,296
389	1386	0	0,80	0,703	1,716	1,402

Характеристика материнських і батьківських форм у F₀ поколінні дозволив встановити тип і групу залозистих волосків, які беруть участь у схрещуванні (табл. 1).

Аналізуючи отримане потомство першого покоління за усіма схемами ми встановили, що у гібридів проявлялась тільки одна альтернативна ознака із визначених пар – залози групи «а» і «в» пригнічували ознаку «відсутність залозистих волосків». У комбінації схрещування «головчато-стебельчасті залозисті волоски групи «в» \ головчато-стебельчасті волоски групи «а»»

отримана морфологічно нова ознака – залозисті волоски нової форми, і вони названі як головчато-стебельчасті залозисті волоски групи «б». У першому поколінні вони розташовувалися на оцвітинах окремих рослин. Волоски віднесені до нової групи – головчато-стебельчастого типу групи «б». Раніше не описані у батьківських формах.

Гібридологічний аналіз потомства другого покоління вирощеного в ізольованому розсаднику, дозволив встановити закономірності його розщеплення за класами.

Таблиця 4. Кількість залозистих волосків на оцвітинах гібридного потомства

Тип та група залозистих волосків	Кількість залозистих волосків на 1 мм ² (Глухівські 10 / ЮСО-29)							
	F ₁				F ₂			
	\bar{X}	α	$M\bar{X}$	V, %	\bar{X}	α	$M\bar{X}$	V, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Мінімум / максимум								
Головчато-стебельчасті								
група «а»	0,63	0,31	0,08	49,7	0,42	0,08	0,02	20,6
група «б»	0,56	0,11	0,06	20,4	0,33	0,04	0,02	14,2
група «в»	0,73	0,47	0,27	64,4	0,56	0,26	0,10	46,9
Головчато-прикріплені	–	–	–	–	0,14	0,06	0,01	43,2
Максимум / мінімум								
Головчато-стебельчасті								
група «а»	0,90	0,33	0,09	43,3	0,51	0,27	0,07	53,5
група «б»	0,50	0,14	0,02	8,3	1,00	0,00	0,00	0,00
група «в»	0,97	0,42	0,11	43,8	0,56	0,30	0,17	53,9
Головчато-прикріплені	–	–	–	–	0,17	0,58	0,14	48,7
Мінімум / мінімум								
Головчато-стебельчасті								
група «а»	–	–	–	–	0,60	0,28	0,20	47,1
група «б»	–	–	–	–	1,05	0,07	0,04	6,7
група «в»	0,78	0,24	0,09	30,7	0,65	0,07	0,04	10,9
Головчато-прикріплені	0,23	0,10	0,04	44,3	0,16	0,08	0,04	53,9
Максимум / максимум								
Головчато-стебельчасті								
група «а»	0,63	0,22	0,02	35,1	0,63	0,17	0,04	26,9
група «б»	0,64	0,24	0,04	37,8	0,70	0,20	0,09	28,6
група «в»	0,56	0,07	0,03	13,3	–	–	–	–
Головчато-прикріплені	0,34	0,15	0,02	44,6	0,15	0,07	0,01	49,8

Як свідчать результати аналізу, що у чотирьох комбінаціях схрещування спостерігається домінування однієї з ознак. Головчато-стебельчасті залозисті волоски груп «а», «б» і

«в» домінували над їх відсутністю.

Визначивши фактично отримане потомство за формою залозистих волосків, ми вважаємо, що досліджувана ознака – форма залоз домінан-

тна, відсутність – рецесивна, тому головчато-стебельчаті залозисті волоски групи «а» позначили як S, головчато-стебельчасті залозисті волоски групи «в» – V, головчато-стебельчасті волоски залозисті групи «б» – B, «відсутність залоз» – рецесивна ознака, як s.

У схемі схрещування – (максимум / мінімум) материнські особини типу – SS гомозиготні по домінантному гену S, схрещувались з батьком типу ss гомозиготному по рецесивній ознаці s. У F₂ поколінні їх генотип був представлений як 1S:2Ss:1ss і фенотип 3S:1s, тобто оцвітини трьох рослин були вкриті головчато-стебельчастими залозистими волосками групи «а», в однієї рослини залозисті волоски були відсутні. Відповідно до схеми схрещування частково жіночі особини з залозами групи «а» могли запилюватися батьківськими формами гомозиготними по домінантному гену S, також регулюючі залозисті волоски групи «а». У поколінні їх генотип і фенотип не відрізнялися – 4SS і 4S. Оцвітини цього потомства були вкриті головчато-стебельчастими залозистими волосками групи «а».

Материнські особини типу VV гомозиготні за домінантним геном V схрещувалися з батьківськими особинами типу ss гомозиготними за рецесивним геном s. Їх генотип був представлений як 1VV:2Vs:1ss, фенотип – 3V:1s. У другому поколінні виявлене розщеплення за фенотипом 3:1, як і у вище описаному варіанті схрещування. У трьох рослин оцвітини були покриті головчато-стебельчастими залозистими волосками групи «в», і на одній рослині вони були відсутні.

Деяка частина особин типу VV гомозиготних по домінантному гену V схрещувалися з батьківськими особинами типу SS гомозиготними за домінантним геном S. Їх генотип був представлений як 1VV:2VS:1SS. Розщеплення у другому поколінні за фенотипом було представлено 1V:2VS:1S, тобто на одній рослині оцвітини були покриті залозистими волосками групи «в», на двох інших залозами названими нами групи «б» і на одному залозами групи «а». Залозисті волоски не відрізнялись, як за генотипом, так і за фенотипом. Результати мікроскопічного аналізу показали, що залозисті волоски груп «а» і «в», практично на одній оцвітині однієї рослини не розташовувались. Разом на одній оцвітині розташовувалися залозисті волоски груп «а» і «б». Залозисті волоски групи «б» за зовнішніми, морфологічними ознаками мали деяку подібність з волосками групи «в», але за забарвлен-

ням голівок і ніжок (стеблинки) були однакові з залозами групи «а». Тобто, ми вважали, що була отримана нова група залоз, що розташовувалася на одній оцвітині з групами залоз «а» і в онтогенезі розвитку обумовлювалася двома домінантними генами V і S. У цьому варіанті схрещування взаємодія двох домінантних генів приводила до прояви нової ознаки – форми залоз. Кожен домінантний ген окремо не викликав розвиток нової ознаки, тільки спільна дія сприяла цьому. Ефект їх спільної дії виявлявся у виникненні нової ознаки. У представленому варіанті спостерігалася комплементарна дія генів, два домінантних гени, як би доповнювали один одного.

Виходячи з вищевикладених закономірностей з урахуванням того, що у схрещуванні брали участь материнські і батьківські особини в співвідношенні 1:1, теоретично обчислене загальне потомство від чотирьох комбінацій схрещування в кожній схемі представляло співвідношення за генотипом, як 6SS:2Ss:2VV:2Vs:2ss:2SV і фенотипом 8S:4V:2SV:2s. Раніше відзначали, що в кожній схемі кількість батьківських особин, які брали участь у схрещуванні відрізнялись за формою залозистих волосків, або їх відсутність була різною, тому фактично отримане співвідношення за класами у кожній схемі також було різне.

У схемі схрещування – (максимум / мінімум) теоретично обчислене співвідношення потомства за класами отриманого від чотирьох комбінацій складало 5,6S:1,2V:0,65SV:1ss. Фактичне співвідношення встановлене шляхом мікроскопічного аналізу і підрахунку потомства за групами складало 5S:1V:1SV:0s. У схемі схрещування – (мінімум-кислоти / максимум) теоретично обчислене співвідношення за фенотипом складало 3,65S:2,2V:1,1SV:1,3s, фактичне 3,25S:1,85VV:1Vs:0s. У схемі схрещування (мінімум-кислоти x мінімум) обчислене співвідношення за фенотипом складало 0,93S:3,5V:1,75SV:1,55s, фактичне 1,0S:4V:2SV:1,5s. В останній схемі (максимум x максимум) отримані теоретичні результати були представлені як 1S:3V:2SV:1,5s і фактичні 1,9S:2V:2SV:1s.

Отримані результати давали підставу стверджувати, що під час аналізу застосовувався правильний метод. Відсутність у деяких схемах схрещування рослин, на оцвітинах яких залозисті волоски були відсутні, можливо, було пов'язано з вибірковістю запліднення, або з меншою їх життєздатністю.

Висновки

1. Морфологічного аналіз потомства значених вище батьківських пар показав, що гібриди першого покоління були однотипними.

2. У гібридів другого покоління виявлено розщеплення потомства за фенотипом. Головчато-стебельчаті залозисті волоски груп «а», «б» і «в» домінували над їх відсутністю. Лише у схемі схрещування «мінімум / мінімум» визначена група рослин на яких залозисті волоски

були відсутні.

3. Отримана нова група залоз – головчато-стебельчаті волоски групи «б». Вважаємо, що при взаємодії двох домінантних генів проявлялася нова морфологічна ознака – форма залоз. У представленому вище варіанті схрещуванні виявлена комплементарна дія двох домінантних генів.

Література

1. Горшкова Л.М., Сенченко Г.І., Вировець В.Г. Способ оценки растений конопли по содержанию каннабиноидных соединений. – Авторське свідоцтво ССРСР / Л.М. Горшкова. 15.11.1987. №138687
2. Горшкова Л. М. Каннабім. – Глухів: РВВ ГДПУ, 2008. – Ч. II. – 151 с.
3. Hammond G.T. and Mahlbery P.G. Morphology of Clangular Nairs of Cannabis sativa from scanning electron microscopy / G.T. Hammond American Journal of Botany. – 1973. – Vol. 60, №6. – P. 524–528.

HORSHKOVA L.M.¹, BOHDANOVA A.S.¹, VYROVETS V.H.²

¹Hlukhiv National Pedagogical University named by Oleksandr Dovzhenko

Ukraine, 41400, Sumy region, Hlukhiv, Kyiv-Moscow Street, 24, e-mail: kafbiol@mail.ru

²Research Station of Bast Crops of the Institute of Agriculture of Northern-East NAAS Ukraine, 41400, Sumy region, Hlukhiv, Tereschenkiv Street, 45, e-mail: ibc@sm.ukrtel.net

INHERITING THE GLAND HAIRS MORPHOLOGICAL FEATURES BY THE POSTERITY

Aims. The article deals with the research of inheriting the morphological features of gland hairs by the posterity. The connection between the existence of the gland hairs and the concentration of cannabinoids in the hemp plants was investigated. The selective work was aimed at lowering the cannabinoids content in the hemp plants by means of selecting the plants with less gland hairs as they are mainly the bearers of the substance. **Methods.** During the investigation the stereoscopic microscope was the main device and the method of the thin layer chromatography was used. The cannabinoids quantity was defined by the gas and liquid chromatograph of the type Hewlett Packard 3380 A. The inner standard of the experiment was methyl ether of the stearin acid C₁₉H₃₈O₂. **Results.** The second generation hybrids demonstrated splitting by the phenotype. The hybridological analysis proved dominating the gland hairs over their absence. **Conclusions.** Besides the interaction of two dominant genes was shown as the new morphological feature - the gland form which was the proof of the genes complementary result.

Key words: lowering the cannabinoids content, gland hairs, inheriting, morphological features, thin layer chromatography method.

ДРАГУЛЯН М.В.¹, КОСТЕНКО С.О.², СИДОРЕНКО О.В.³

¹Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Україна, 03143, Київ, вул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: parus_major@ukr.net

²Національний університет біоресурсів та природокористування України

Україна, 03041, Київ, вул. Героїв Оборони, 15, e-mail: swetakostenko@mail.ru

³Інститут розведення та генетики тварин НААН України

Україна, 08321, Київська обл., с. Чубинське, вул. Погребняка, 1

ЗВ'ЯЗОК СТАБІЛЬНОСТІ ГЕНОМУ З РІЗНИМИ ГЕНОТИПАМИ ГЕНІВ ВІДТВОРЕННЯ СВИНОМАТОК

Відомо, що естрагоновий гормон (ES) разом із гормоном пролактином (PRL) та фолікулостимулюючим гормоном (FSH) приймають

участь у стимуляції скорочення яйцепроводів під час запліднення, регулюють ріст та розвиток яєчників, дозрівання овоцитів, морфологічну та