

– С. 131–139.

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

VASILEV V.

Kharkov state zooveterinary academy

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

EVALUATION OF SPERM QUALITY INTERFERENCE MICROSCOPY TECHNIQUES

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

Keywords: spermatozoa, interference microscopy, fertility.

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

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

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

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

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

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

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

Материалы и методы

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

Результаты и обсуждение

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

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

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

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

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

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

Таблица 1. Биохимический состав плодов

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

Выводы

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

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

Литература

1. Вержук В.Г., Тихонова Н.Г., Савельев Н.И., Дорохов Д.С. Методы криохранения геноплазмы растений плодовых и ягодных культур // Международная научно-практическая конференция «Развитие научного наследия И.В. Мичурина по генетике и селекции плодовых культур». – Мичуринск Нукоград., 2010. – С. 80–83.
2. Вержук В.Г., Павлов А.В., и др. Криоконсервация побегов и почек черемухи (*Padus Mill*) с применением различных криопротекторов и режимов замораживания. – К., 2011. – С. 233–237.
3. Вержук В.Г., Павлов А.В., Тихонова О.А., Новикова Л.Ю. Жизнеспособность геноплазмы черной смородины (*Ribes nigrum L.*) обработанной криопротекторами и без них после хранения в парах жидкого азота. – К., 2012. – С. 417–421.
4. Forslin P.I, Towill L.E., Waddel J.W. at al. Recovery and longevity of cryopreserved dormant apple buds // J. Amer. Soc / Hort. Sci. – 1998. – Vol. 123, №3. – P. 365–370.
5. Попов А.С. Криоконсервация культивируемых клеток. Методы культивирования клеток. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 236–248.
6. Дорохов Д.С., Вержук В.Г., Борзых Н.В. и др. Влияние криоконсервации черенков яблони на биохимический состав плодов // Плодоводство и ягодоводство России. Сборник научных работ. – М., 2012. – Т. XXXII, Ч. 2. – С. 118–122.
7. Вержук В.Г., Тихонова О.А., Тихонова Н.Г. Фертильность пыльцы черной смородины (*Ribes nigrum L.*) при сверхнизких режимах хранения. – М., 2007. – С. 66–68.
8. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур / Под общ. ред. Е.Н. Седова, Т.П. Огольцовой. – Орел: Изд-во ВНИИСПК, 1999. – 608 с.
9. Седов Е.Н. Селекция яблони на улучшение химического состава плодов. – Орел, 1982. – 120 с.
10. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. – Л.: Колос, 1987. – 430 с.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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