

Karyological analysis of 16 spruce species and interspecific hybrid have been carried out. Diploid complements of these species include 24 chromosomes ( $2n=24$ ). In karyotypes of 11 species supernumerous (B-) chromosomes occur: *P. schrenkiana*, *P. jezoensis*, *P. pungens*, *P. x fennica* и *P. breweriana* –  $2n=24+1B$ , *P. koyamae* and *P. engelmannii* –  $2n=24+1-2B$ , *P. ajanensis* and *P. meyeri* –  $2n=24+1-3B$ , *P. obovata* –  $2n=24+1-4B$ , *P. glehnii* –  $2n=24+1-5B$ . Morphology of B-chromosomes mainly is metacentric or submetacentric. Geographical distribution and possible significance of B-chromosome in *Picea* representatives are presented.

**ПІРКО Я.В.<sup>1</sup>, ТАРАНЕЦЬ Л. П.<sup>2</sup>, ШАКУЛА О.О.<sup>3</sup>, КОРШИКОВ І.І.<sup>3</sup>,  
БЛЮМ Я.Б.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а, e-mail: [yavp@mail.ru](mailto:yavp@mail.ru)

<sup>2</sup>Національний університет Києво-Могилянська академія, Україна, 04070, м. Київ, вул. Г. Сковороди, 2, e-mail: [itillia@rambler.ru](mailto:itillia@rambler.ru)

<sup>3</sup>Донецький ботанічний сад НАН України, Україна, 83059, м. Донецьк, пр. Ілліча, 110, e-mail: [herb@herb.dn.ua](mailto:herb@herb.dn.ua)

### **ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ *ACHILLEA GLABERRIMA* КЛОК. ТА *ACHILLEA LEPTOPHILLA* ВІЕВ. ЗА ДОПОМОГОЮ RAPD МАРКЕРІВ**

Збереження та прогнозування існування природних популяцій окремих видів рослин, які знаходяться під загрозою зникнення, вимагає проведення комплексних біологічних досліджень щодо визначення динаміки чисельності, просторової, вікової та генетичної структури популяцій. Оцінку генетичної різноманітності популяцій все частіше проводять із застосуванням молекулярно-генетичних методів аналізу, які базуються на використанні різного роду генетичних маркерів.

*Achillea glaberrima* (деревій голий) та *Achillea leptophilla* (деревій тонколистий (м'яколистий)) належать до жовтокріткових таксонів секції *Filipendulinae* (DC.) Afan. Ці два види поширені в Україні на порівняно невеликій території. Зокрема, *A. leptophilla* є причорноморським ендеміком кам'янистих оголень, а *A. glaberrima* відноситься до стенотопних ендеміків Приазов'я, який зустрічається тільки на гранітних оголеннях заповіднику «Кам'яні могили» (занесений до Червоної книги України). Слід зауважити, що деякі дослідники вважають *A. glaberrima* похідною від *A. leptophilla* расою, яка повністю втратила опушення. Обидва ці види заслуговують на всебічне вивчення та охорону [1].

#### **Матеріали та методи**

Для вивчення генетичної мінливості *A. leptophilla* та *A. glaberrima* був використаний RAPD-метод (Random Amplified Polymorphic DNA), перевагою якого є технічна простота та швидкість проведення аналізу. Метод не потребує будь-якої інформації про послідовність ДНК, яка, до речі, для аналізу може бути взята в невеликій кількості.

Для аналізу використовували рослини *A. glaberrima* та *A. leptophilla*, що були отримані в результаті пророщування насіння, яке було зібране в популяціях обох видів на території заповідника «Кам'яні могили». ДНК з листя кожної рослини виділяли за допомогою кіта (Gene Elute™ Plant Genomic DNA Miniprep Kit) фірми Sigma.

Ампліфікацію проводили з використанням чотирьох ОРП праймерів фірми Operon, USA (OPP 1, OPP 2, OPP 3, OPP 5). Реакційна суміш для проведення полімеразної ланцюгової реакції об'ємом 25 мкл містила: 50 нг геномної ДНК, 0,2 мкМ праймера, 200 мкМ кожного: dATP, dCTP, dGTP та dTTP, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2,5 одиниці

Тақ полімерази («Реплікон», Росія). Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі АВ 2700 за наступною програмою: початкова денатурація при 95 °С, 5 хв; ампліфікація - 45 циклів (95 °С - 1 хв, 35 °С - 1 хв, 72 °С - 2 хв); кінцеве подовження - 72 °С на протязі 7 хв. Продукти ампліфікації розділяли за допомогою електрофорезу в 2% агарозному гелі в 1X TBE-буфері в присутності етидій броміду. Візуалізацію фрагментів проводили в ультрафіолетовому світлі. Для визначення довжини фрагментів використовували ДНК-маркер (GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder, ready-to-use) фірми Fermentas (Литва).

Для кількісної оцінки генетичного поліморфізму досліджуваних видів отримані дані були представлені у вигляді матриці бінарних ознак, у якій наявність чи відсутність RAPD-однакових фрагментів розглядалася відповідно як стан 1 чи 0, при цьому враховувалися тільки відтворені в повторних експериментах фрагменти. Кожний RAPD-фрагмент розглядався як окремий генетичний локус [2].

### Результати та обговорення

У результаті проведеного аналізу двох досліджуваних видів деревію виявлено 41 фрагмент, 32 з яких були поліморфними. Кількість ампліфікованих фрагментів ДНК у сумарній вибірці залежала від праймера і складала в цілому від 7 (OPP-3) до 13 (OPP-5). У середньому кожен з праймерів ініціював синтез 10 фрагментів ДНК. При аналізі RAPD фрагментів двох видів деревію встановлено, що кількість поліморфних фрагментів варіювала від 4 до 9 у *A. leptophilla* та від 4 до 12 у *A. glaberrima*. Загальна кількість RAPD фрагментів у *A. leptophilla* становила 36, у *A. glaberrima* – 37. Рівень поліморфізму ампліфікованих фрагментів ДНК, отриманих у результаті ПЛР зі всіма використаними RAPD праймерами, становив відповідно у *A. leptophilla* - 75% і 46% - у *A. glaberrima*. Кількість поліморфних фрагментів у сумарній вибірці варіювала від 5 до 12. Відповідно, залежно від RAPD праймера, рівень поліморфізму варіював від 66,7% до 100%, склавши в цілому для двох видів 78%. Слід зазначити, що при дослідженні одного з видів деревію – *A. fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip. – рівень поліморфізму за 6 RAPD праймерами, що утворюють 34 фрагменти, склав 65% [3]. В цілому отримані дані свідчать про значно більший рівень поліморфізму у *A. leptophilla*, який має більш широкий, хоча і диз'юнктивний ареал, у порівнянні з вузьколокальним ендеміком *A. glaberrima*. Це може свідчити про звуження генетичного різноманіття у вузькоареального виду *A. glaberrima*, високий ступінь адаптованості цього виду до специфічних умов зростання (мова йдеться про сформований в процесі еволюції генетичний оптимум виду), а також слабкий обмін генами між *A. glaberrima* та *A. leptophilla*, хоча на межі своїх ареалів ці два види здатні утворювати міжвидові гібриди. Слід також враховувати і деякі особливості виду *A. glaberrima*, а саме, значний внесок вегетативного розмноження. Не виключено, що низький рівень поліморфізму в майбутньому може стати однією з причин зникнення виду під все зростаючим антропогенним тиском. В той же час не слід поки-що робити якісь однозначні висновки, оскільки інформацію про генетичну мінливість виду не можна вважати повною без відомостей про рівень гетерозиготності видів. Така інформація може бути отримана завдяки залученню до популяційно-генетичного аналізу кодомінантних маркерів, зокрема, ізоферментів, мікросателітів. Використання як можна більшої кількості різноманітних генетичних маркерів дасть можливість отримати більш ґрунтовну інформацію стосовно генетичних процесів, що відбуваються в популяціях досліджуваних видів, а також вивчити питання, пов'язані з філогенією представників роду *Achillea*.

### Література

1. Сытник К.М., Андрощук А.Ф., Клоков М.В. и др. Тысячелистники. – К.: Наук. думка, 1984. – 272с.
2. Бронникова С.В., Кокаева З.Г., Гостимский С.А., Дрибноходова О.П., Тихомирова Н.Н. Анализ ДНК-полиморфизма реликтового вида Урала

наперстянки крупноцветковой (*Digitalis grandiflora* Mill.) с помощью RAPD- и ISSR-маркерів // Генетика. – 2007. – Т.43, №5. – С. 653-659.

3. Morsy A.A. Molecular Variations of *Achillea fragrantissima* (Forssk.) SCH. Bip. Growing in Five Areas of South Sinai // Int. J. Agri. Biol. □ 2007. □ Vol. 9, No. 1 □ P. 11-17.

### Резюме

За допомогою RAPD маркерів досліджено генетичний поліморфізм двох ендемічних видів деревію *Achillea glaberrima* Klok. та *Achillea leptophilla* Bieb. Рівень поліморфізму у *A. leptophilla* склав 75% і 46% - у *A. glaberrima*. В цілому отримані дані свідчать про значно більший рівень поліморфізму у *A. leptophilla*, який має більш широкий, хоча і диз'юнктивний ареал, у порівнянні з вузьколокальним ендеміком *A. glaberrima*.

При помощи RAPD маркерів исследован генетический полиморфизм двух эндемичных видов тысячелистника *Achillea glaberrima* Klok. и *Achillea leptophilla* Bieb. Уровень полиморфизма у *A. leptophilla* составил 75% и 46% - у *A. glaberrima*. В целом, полученные данные свидетельствуют о значительно большем уровне полиморфизма *A. leptophilla*, который имеет более широкий, хотя и дизъюнктивный ареал, по сравнению с узколокальным эндемиком *A. glaberrima*.

Genetic polymorphism of the two endemic species *Achillea glaberrima* Klok. and *Achillea leptophilla* Bieb. have been studied using RAPD markers. The level of genetic polymorphism of *A. leptophilla* is 75% and *A. glaberrima* - 46%. Obtained data indicate that the endemic *A. leptophilla* with wide disjunctive area have much more level of genetic polymorphism than the narrow-local *A. glaberrima*.

### ПОЛІЩУК Л.В.<sup>1</sup>, ЛУКЯНЧУК В.В.<sup>1</sup>, МАРІЄВСЬКИЙ В.Ф.<sup>2</sup>, РУБАН Н.М.<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Інститут мікробіології і вірусології НАН України,

Україна, Д03680, Київ, вул. акад. Заболотного, 154, e-mail: [Polischuk@serv.imv.kiev.ua](mailto:Polischuk@serv.imv.kiev.ua)

<sup>2</sup> Інститут епідеміології та інфекційних хвороб АМН України,

Україна, 03038, Київ, вул. акад. Амосова, 5

### ПЛАЗМІДИ ТРЬОХ КЛІНІЧНИХ ШТАМІВ ESCHERICHIA COLI

Як відомо, внутрішньо лікарняні інфекції (ВЛІ) стали однією з найбільш гострих проблем сучасної системи охорони здоров'я як в Україні, так і у всьому світі [1, 2, 7, 10]. Однією з характерних рис ВЛІ сьогодення є те, що її спалахи часто спричиняють умовно-патогенні мікроорганізми [1, 2, 7]. До 50% випадків ВЛІ її збудниками є бактерії родини *Enterobacteriaceae*, однак найбільш часто їх спричиняють штами *Escherichia coli*, деякі види родів *Kebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Providencia* та ряд інших [7, 8].

Встановлено, що плазмідні широко поширені серед представників цієї родини мікроорганізмів [8, 12]. Позахромосомна ДНК виявлена у 25-75% всіх досліджених штамів, в залежності від місця відбору зразка та родових особливостей бактерій [12]. Наявність плазмідних ДНК у патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів має особливо велике значення через детермінацію ними стійкості до антибіотиків чи синтезу токсинів та можливість передачі цих властивостей патогенним мікроорганізмам [11].

У трьох клінічних штамів *Escherichia coli* було виявлено плазмідні ДНК. Метою роботи було визначення їх молекулярного розміру та рестрикційний аналіз.

### Матеріали і методи