

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, BORZHYYH 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,

если аллели слабые, имеют низкую семенную продуктивность, поскольку листья у них отмирают [1]. Поэтому при подборе родительских пар для скрещиваний селекционеры должны избегать объединения генов гибридного некроза. Сведения о сортах-носителях летальных генов Ne можно найти в публикациях [2, 3]. Однако данные о состоянии генов гибридного некроза многих сортов украинской селекции отсутству-

Материалы и методы

Материалом для исследований служили 257 сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), среди которых 213 сортов разных селекционных центров Украины, 37 сортов российской селекции и 7 иностранных сортов.

ДНК выделяли из сухих зерен и 3–5 дневных проростков [5]. ПЦР с направленными праймерами к микросателлитному локусу *Xbarc55-2B* проводили на термоциклере «Терцик» («ДНК-технология», Россия). Реакционная смесь содержала буфер (67 мМ трис-HCl pH 8,8; 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄; 1,5 мМ MgCl₂; 0,01 % Tween-20); 0,2 мМ каждого dNTP; 0,25 мкМ праймера; 20 нг ДНК; 1 ед. Taq-полимеразы. Условия реакции – 35 циклов: денатурация при 94 °С – 30 с (начальная – 2 мин), отжиг при 55 °С – 30 с, элонгация при 72 °С – 1 мин, заключи-

Результаты и обсуждение

При исследовании 257 сортов *Triticum aestivum* выявлено 6 аллелей локуса *Xbarc55-2B*, размером 146 п.н., 142 п.н., 136 п.н., 132 п.н., 126 п.н., 122 п.н. (рис. 1). Большинство сортов (94 %) являются линейными с присутствием одного из аллелей вышеуказанного локуса (табл. 1). Ряд сортов (7 %) оказались неоднородными и состояли из двух генотипов по аллелям локуса *Xbarc55-2B*. Популятивные сорта можно распределить на 4 группы, в зависимости генотипа. Таким образом, все исследуемые сорта можно распределить на 9 групп, 5 из которых характеризуются наличием одного аллеля локуса *Xbarc55-2B*, а 4 являются гетерогенными.

Наиболее распространен у сортов пшеницы мягкой украинской и российской селекции аллель локуса *Xbarc55-2B* размером 136 п.н. Частота встречаемости указанного аллеля в общем наборе сортов составила 77,2 % (табл. 2). Этот аллель характерен для сортов Chinese Spring, Безостая 1, Альбатрос одесский, Украин-

ют.

Микросателлитный локус *Xbarc55-2B* близко сцеплен с геном гибридного некроза *Ne2* [4] и может использоваться как диагностический маркер для вышеуказанного гена.

Цель настоящего исследования – идентификация сортов мягкой пшеницы различных регионов по локусу *Xbarc55-2B*, сцепленному с геном гибридного некроза *Ne2*.

тальная элонгация – 4 мин. Продукты амплификации фракционировали в 12 % полиакриламидном геле в 1хTBE. Электрофорез проводили при постоянном напряжении 500 В в аппарате для вертикального гель-электрофореза «Hoefer Scientific Instruments» (США). Гели окрашивали нитратом серебра согласно Silver sequence TMDNA Sequencing System Technical Manual («Promega», США). Видеоизображение и размеры амплифицированных фрагментов получали с помощью видеосистемы «ImageMaster VDS» («AmershamPharmaciaBiotech», США). Калибровку молекулярной массы проводили при использовании стандарта pUC 19/MspI.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по общепринятым методам [6].

ка одесская, Селянка и др., которые несут рецессивный аллель гена *ne2* [3, 7]. Т.е. аллельный вариант локуса *Xbarc55-2B* 136 п.н. связан с рецессивным аллелем гена *ne2* и может использоваться как диагностический. Сорта с таким генотипом можно использовать в любых вариантах скрещиваний, гибридный некроз при этом выявляться не будет.

Наименее распространены у сортов мягкой пшеницы аллели 146 п.н., 142 п.н. и 122 п.н. Аллель 146 п.н. характерен для сортов Agatha, Agent, Transfer (США, Канада) и не выявлялся у сортов пшеницы мягкой украинской и российской селекции. Аллель 142 п.н. встречался у 3 сортов Дар Луганщини, Мильтурум 513, Смуглянка. Аллель микросателлитного локуса размером 122 п.н. выявлен у сорта Апогей Луганский, при этом, вышеуказанный сорт гетерогенен и состоит из двух генотипов (генотип с аллелем 122 п.н. и генотип с аллелем 136 п.н.), которые встречались с одинаковой частотой.

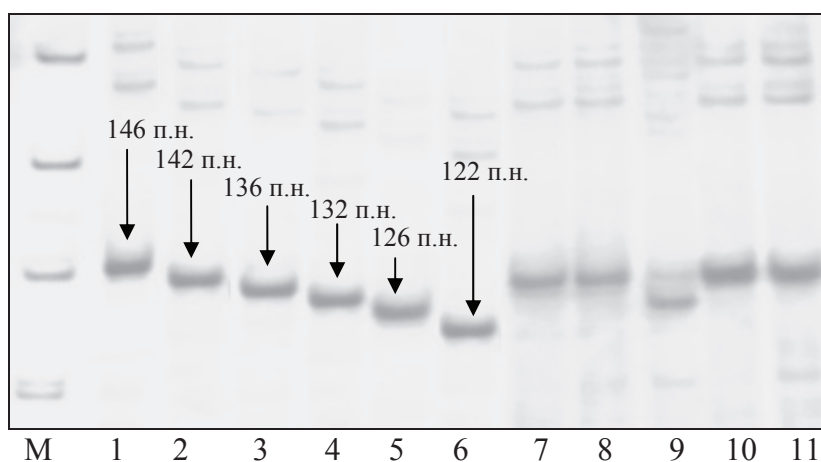


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК сортов озимой пшеницы по локусу *Xbarc55-2B*: М – маркер молекулярного веса pUC19/MspI; 146 п.н.: 1 – Agatha; 142 п.н.: 2 – Смуглянка; 136 п.н.: 3 – Chinese Spring; 132 п.н.: 4 – Мироновская 808; 126 п.н.: 5 – Багратионовская; 122 п.н.: 6 – Апогей Луганский; 7 – Апогей Луганский, 8 – Альбатрос одесский; 9 – Истина одесская; 10 – Селянка; 11 – Безостая 1

Частота аллелей локуса *Xbarc55-2B* размером 132 п.н. и 126 п.н. в общем наборе сортов составила 12,5 % и 7,8 %, соответственно. Аллель 132 п.н. характерный для Мироновской 808 и Краснодарской 99, которые несут гены *Ne2* сильного действия.

Аллель 126 п.н. также выявлялся у сортов с генами *Ne2* сильного действия Багратионовская и Мироновская 27. Таким образом, аллельные варианты локуса *Xbarc55-2B* размером 132 п.н. и 126 п.н. связаны с доминантными аллелями гена *Ne2*. На сорта с таким генотипом селекционерам следует обращать особое внимание, так как при скрещивании их с другими сортами несущими доминантный аллель гена *Ne1* вероятно проявление гибридного некроза.

Наибольшее распространение аллели 132 п.н. и 126 п.н. получили у сортов Севера Украины (23,8 % и 26,3 %, соответственно). У исследованных нами сортов Востока Украины и Северного Кавказа часто встречался аллель 132 п.н. и не был выявлен аллель 126 п.н. Частота аллеля 132 п.н. на Юге Украины составила 7,2 %, а аллеля 126 п.н. – 3,3 %.

Первоисточником аллеля 132 п.н. в сортах украинской селекции был сорт Банатка. Сорт

Украинка, получен отбором от Банатки, также содержал аллель 132 п.н. Сорт Мироновская 808, для которого также характерен аллель 132 п.н., по нашему мнению, был получен от сорта Украинка, а не от сорта Артемовка (аллель 136 п.н.), как указано в его родословной. Дальнейшее распространение аллеля 132 п.н. среди сортов пшеницы мягкой на Севере Украины связано с Мироновской 808. На Юге Украины в селекционный процесс в основном привлекались сорта с аллелем локуса *Xbarc55-2B* размером 136 п.н. (Одесская 16, Безостая 1, Одесская 51, Альбатрос одесский, Виктория одесская), что и послужило причиной наибольшего распространения указанного аллеля среди сортов этого региона.

Аллель 126 п.н. впервые выявлен у сорта-популяции Крымка местная и у сорта Кооператорка, который получен отбором из Крымки. В сортах, которые выращивались на территории Украины с 1947 по 1993 годы указанный аллель практически не выявлялся. Широкое распространение аллель локуса *Xbarc55-2B* 126 п.н., связанный с доминантным аллелем гена *Ne2*, получил в последние 20 лет, особенно среди сортов Севера Украины.

Выводы

Идентифицированы по аллелям локуса *Xbarc55-2B*, сцепленного с геном гибридного некроза *Ne2*, генотипы 257 сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) различного географического происхождения. Выявлено шесть аллелей указанного локуса, размером 146 п.н., 142 п.н., 136 п.н., 132 п.н., 126 п.н. и 122 п.н. В общем и в наборах сортов всех регионов с

большой частотой встречался аллель 136 п.н. (47,5–89,5 %), который вероятно связан с рецессивным аллелем гена *ne2*. Аллель 132 п.н., характерный для сорта-носителя доминантного аллеля гена *Ne2* Мироновская 808, встречался у 12,5 % исследованных сортов и наибольшее распространение получил среди сортов Северного Кавказа, Севера и Востока Украины.

Таблица 1. Генотипы сортов мягкой пшеницы различного географического происхождения по аллелям локуса *Xbarc55-2B*

Аллель	п	$p \pm S_p, \%$	Сорт
146 п.н.	3	1,2 \pm 0,7	Agatha, Agent, Transfer
142 п.н.	3		Дар Луганщини, Мильтурум 513, Смуглянка
136 п.н.	191		Chinese Spring, Аврора, Альбатрос одесский, Альбидум 114, Альбидум 12, Антонивка, Артемовка, Астет луганский, Бэзмэжна, Безостая 1, Белоцерковская 198, Билява, Благодарка одесская, Борвий, Бриз, Бригангина, Бунчук, Буревестник одесский, Василина, Вагажок, Вдала, Веселка, Веселоподольская 499, Веснянка, Ветеран, Выхованка одесская, Виген, Виктория одесская, Володарка, Гирка местная (0274), Годувальныця одесская, Голубка одеская, Господиня, Гостианум 237, Гурт, Дальныцька, Дарунок, Довира, Донецька 48, Донсимб, Донская, Дриада 1, Дюк, Едність, Жайвир, Журавка, Задумка, Заможність, Застава одесская, Звытяга, Земка, Землячка одесская, Зенитка, Зыск, Зирка, Злагода, Змина, Знахідка одесская, Золотава, Золотоколоса, Зорепад, Ивановская остистая, Кавказ, Казанская 237, Казанская 285, Киевская 8, Киевская остистая., Киянка, Кирия, Княгиня Ольга, Коломак 3, Коломак 5, Красень, Красуня одесская, Кубанка, Кубанка 2, Куяльник, Лад, Лада од., Лан, Лановый, Лебидка, Лелека, Леля, Лиона, Лира, Лузановка одесская, Лыганивка, Люгесценс 17, Люгесценс 7, Мелодия, Мироновская юбилейная, Мироновская 264, Мильтурум 553, Мильтурум перерод, Миссия одесская, , Наснага, Находка 4, Небокрай, Нива, Никония, Обрий, Одесская 3, Одесская 12, Одесская 26, Одесская 51, Одесская 66, Одесская 117, Одесская 120, Одесская 130, Одесская 132 Одесская 161, Одесская 265, Одесская 266, Одесская 267, Одесская безостая, Одесская красноколосая, Одесская остистая полунтенсивная, Одом, Оксана, Олеся, Оливия, Омская 2, Омская 3, Омская 4, Омская 5, Омская озимая, Отаман, Панна, Пересвет, Перлына лисостепу, , Победа 50, Повага, Подяка, Полукарлик 1, Польовик, Порада, Пошана, Прибой, Прима одесская, Прогресс, Прокофьевка, Прометей, Пылыпивка, Пысанка, Розмай, Росинка, Свитанок 1, Селянка, Сибирская нива, Символ одесский, Сирена одесская, Скарбныця, Скифянка, Скороспелка 1, Скороспелка 3б, Служныця одесская, Снигурка, Софийка, Спарганка, Співанка, Струмок, Супутныця, Турунчук, Ужинок, Українка полтавская, Українка одесская, Фангазия одесская, Федоровка, Фрегат одесский, Харус, Хвыля, Херсонская 99, Херсонская остистая, Херсонская безостая, Хыст, Хуртовина, Цыганка, Чайка, Червона, Черноброва, Элегия, Эпоха одесская., Эра, Эритроспермум 127, Эритроспермум 15 (Стахановка), Юбилейная 75, Южная зоря, Юннат одесский, Якорь одесский, Ятрань 60
132 п.н.	26	10,1 \pm 1,9	Батько, Белоцерковская полукарликовая, Белоснежка, Богдана, Добрович, Донской сюрприз, Запорука, Зустріч, Кнопа, Краснодарская 99, Ластивка, Лесостепка 75, Любава одесская, Мироновская остистая, Мироновская 808, Одесская 162, Подольнка, Ренан, Северная зоря, Українка, Українка 0246, Ульяновка, Харьковская 105, Харьковская 96, Шестопаловка, Юна
126 п.н.	17	6,6 \pm 1,5	Vabaх, Багратионовская, Вымпел одесский, Истина одесская, Кооператорка, Крыжынка, Мирич, Мироновская 65, Мироновская 27, Мироновская 33, Мирхард, Саратовская 25, Степова, Фаворитка, Фарандоль, Экспромт, Ясочка
136 п.н.+ 126 п.н.	4	1,6 \pm 0,8	Зоря, Колумбия, Крымка местная, Нагорода одесская

7	136 п.н.+122 п.н.	1	0,4±0,4	Апогей Луганський	
8	136 п.н.+132 п.н.	10	3,9±1,2	Банатка, Диканька, Донецкая полукарликовая, Заграва одесская, Иллйичевка, Косовыця, Одесская 133, Одесская полукарликовая, Станичная, Тира	
9	132 п.н.+126 п.н.	2	0,8±0,6	Лыбидь, Мирлебен	
		257			

Примечание: * – в сорте присутствуют два генотипа с разными аллелями локуса *XbaI*c55-2*B*

Таблица 2. Частоты аллелей гена *Me2* в общем наборе сортов и в наборах сортов разных регионов Украины и России

Алель, п.н.	Общий набор		Юг Украины		Север Украины		Восток Украины		Западная Сибирь, Поволжье		Северный Кавказ	
	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %	n	p±S _p , %
146 п.н.	3	1,2 ±0,7	0	0 ±0,6	0	0,0 ±2,3	146 п.н.	3	1,2 ±0,7	0	0 ±0,6	0
142 п.н.	3	1,2 ±0,7	0	0 ±0,6	1	2,5 ±2,5	142 п.н.	3	1,2 ±0,7	0	0 ±0,6	1
136 п.н.	198,5	77,2 ±2,6	136	89,5 ±2,5	19	47,5 ±7,9	136 п.н.	198,5	77,2 ±2,6	136	89,5 ±2,5	19
132 п.н.	32	12,5 ±2,1	11	7,2 ±2,1	9,5	23,8 ±6,7	132 п.н.	32	12,5 ±2,1	11	7,2 ±2,1	9,5
126 п.н.	20	7,8 ±1,7	5	3,3 ±1,4	10,5	26,3 ±7,0	126 п.н.	20	7,8 ±1,7	5	3,3 ±1,4	10,5
122 п.н.	0,5	0,2 ±0,3	0	0 ±0,6	0	0,0 ±2,3	122 п.н.	0,5	0,2 ±0,3	0	0 ±0,6	0
Итого	257		152		40		Итого	257		152		40

Литература

1. Спеціальна селекція польових культур: Навчальний посібник / В.Д. Бугайов, С.П. Васильківський, В.А. Власенко та ін.; за ред. М.Я. Полоцького. – Біла Церква, 2010. – 368 с.
2. Пухальский В.А., Мартынов С.П., Добротворская Т.В. Гены гибридного некроза пшеницы (теория вопроса и каталог носителей летальных генов). – Москва: МСХА, 2002. – 316 с.
3. Пухальский В.А., Билинская Е.Н., Мартынов С.П., Добротворская Т.В., Оболенкова Г.А. Новые данные по распространению генов гибридного некроза в сортах озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) // Генетика. – 2008. – Т.44, №2. – С. 209–218.
4. Chu C.-G., Faris J.D., Friesen T.L., Xu S.S. Molecular mapping of hybrid necrosis genes *Ne1* and *Ne2* in hexaploid wheat using microsatellite markers // *Theor Appl Genet* – 2006. – V. 112. – P. 1374–1381.
5. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: Науч.-метод. Руководство. – К.: Аграр. наука, 1998. – 156 с.
6. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – М.: Колос, 1973. – 327 с.
7. Catalogue of gene symbols for wheat: 2011 supplement [Электронный ресурс] / McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C.. – Режим доступа: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2011.pdf>

GALAEV A.V., GALAEVA M.V., SIVOLAP Yu.M.

*Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigations
Ukraine, 65036, Odessa, Ovidiopolskaya dor. str., 3, e-mail: galaev7@rambler.ru*

DISTRIBUTION OF ALLELES OF *Xbarc55-2B* MICROSATELLITE LOCUS CLOSELY LINKED TO HYBRID NECROSIS GENE *Ne2* IN BREAD WHEAT VARIETIES (*TRITICUM AESTIVUM* L.)

Aims. Identification of bread wheat varieties from different regions by *Xbarc55-2B* locus closely linked to gene *Ne2*. **Methods.** Polymerase chain reaction (PCR), gel-electrophoresis. **Results.** 257 genotypes of bread wheat varieties from Ukraine and Russia selection centers were identified by the locus *Xbarc55-2B*. There were detected six alleles of this locus, namely 146, 142, 136, 132, 126 and 122 bp. Allele 136 bp was met more frequently (47,5–89,5 %) in the general set of varieties and in the sets of varieties from individual regions. Allele 132 bp, which is typical for Mironovskaya 808 (variety-carrier of dominant allele of *Ne2* gene), was detected in 12,5 % of the studied varieties. **Conclusion.** Allele 136 bp is probably associated with the recessive allele of *ne2* gene.

Key words: *Triticum aestivum* L., hybrid necrosis genes, microsatellite loci

ГУЗЄВ І.В.

Інститут розведення і генетики тварин НААН

*Україна, 08321, Київська обл., Бориспільський р-н, с. Чубинське, вул. Погребняка, 1,
e-mail: guzev@cdmaua.com*

ЦІЛІ, ЦІННОСТІ Й ОДИНИЦЯ ЗБЕРЕЖЕННЯ БІОРІЗНОМАНІТТЯ ТА ГЕНОФОНДОВИЙ ОБ'ЄКТ У ТВАРИННИЦТВІ

Чітке визначення цілей є вирішальним етапом для всієї діяльності щодо збереження. Ключове поняття, що стає перед нами в проблематиці збереження генетичних ресурсів тварин [ГРТ] – це наявність їх генетичного різноманіття (різної структурованості), як результату спадкової мінливості тварин. Це та основоположна цінність, на збереження якої, в кінцевому підсу-

мку, і повинні бути направлені усі наші основні різновекторні зусилля. При цьому слід чітко визначитись із основною охоронною одиницею (або генофондовим об'єктом). Тобто, що ми, в першу чергу, збираємось зберігати та чому (яка якісна своєрідність, через певні види специфічних цінностей, їй повинна бути притаманна?).

Матеріали і методи

На основі аналізу «Стану Всесвітніх генетичних ресурсів тварин» (SoW – AnGR, 2007) [1] в частині віддавання переваг різними країнами

різним видам специфічних цінностей, як похідних якісної своєрідності будь-якої з відомих популяційних структур, а також сучасних базових