

23. *The UniProt Consortium*. The Universal Protein Resource (UniProt) // Nucl. Acids Res. - 2008. – Vol.36. – D190-D195. [doi:10.1093/nar/gkm895].
24. *Korf I., Yandell M., Bedell J.* BLAST. O'Reilly & Associates, Sebastopol, 2003. – 368p.
25. *Claverie J.-M., Notredame C.* Bioinformatics for dummies. 2nd Ed. Wiley Publ., New York, 2007. – 436 p.
26. *Letunic I., Copley R.R., Pils B., Pinkert S., Schultz J., Bork P.* SMART 5: domains in the context of genomes and networks // Nuc. Acids Res. – 2006. – Vol.34. - D257-D260. [doi:10.1093/nar/gkj104].
27. *Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G.* Clustal W and Clustal X version 2.0 // Bioinformatics. – 2007. – Vol.23. – P. 2947-2948.
28. *Chunhua Z., Brankle S., Mallery E., Szymanski D.B.* Composition and function of the *Arabidopsis* WAVE complex during epidermal morphogenesis. In: 17th Int. Conference on *Arabidopsis* Research. June 28 – July 2, 2006. Abstracts. – 2006. - #131.
29. *Hanks S.K., Quinn A.M.* Protein kinase catalytic domain sequence database: identification of conserved features of primary structure and classification of family members // Methods Enzymol. – 1991. – Vol.200. – P. 38-62.
30. *Nei M., Kumar S.* Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press, New York. - 2000. – 333 p.
31. *Page R.D.M.* TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers // Comp. Appl. in the Biosciences. - 1996. – Vol.12. – P. 357-358.
32. *Kumar S., Dudley J., Nei M., Tamura K.* MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences // Brief. in Bioinform. – 2008. – Vol. 9. – P. 299-306.
33. *Dan I., Watanabe N.M., Kusumi A.* The Ste20 group kinases as regulators of MAP kinase cascades // Trends Cell Biol. – 2001. – Vol.11, №5. - P.220-230.

Резюме

Обнаружено 9 растительных гомологов STE20-подобных протеинкиназ животных и дрожжей. На основании сходства последовательностей каталитических доменов показано, что ближайшими растительными гомологами STE20-подобных протеинкиназ являются A9RVK0 из *Physcomitrella patens* subsp. *patens* и A7P2E2 из *Vitis vinifera*.

Знайдено 9 рослинних гомологів STE20-подібних протеїнкіназ тварин і дріжджів. На підставі подібності послідовностей каталітичних доменів встановлено, що найближчими рослинними гомологами STE20-подібних протеїнкіназ є A9RVK0 із *Physcomitrella patens* subsp. *patens* і A7P2E2 із *Vitis vinifera*.

It was identified 9 plant homologs of the animal and yeast Ste20-like protein kinases. It is shown, on the basis of similarity of sequences of catalytic domains, that nearest plant homologs of Ste20-like protein kinases are the A9RVK0 from *Physcomitrella patens* subsp. *patens* and A7P2E2 from *Vitis vinifera*.

КОЖУХОВА Н.Э.

Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН

Украина, 65036, Одесса, ул. Овидиопольская дорога, 3, e-mail: natavolk@rambler.ru

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ИЗУЧЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУКУРУЗЫ

Генетические ресурсы растений рассматриваются во всем мире как основной источник улучшения сельскохозяйственных культур на ближайшие десятилетия. Однако, по данным Организации по пищевым ресурсам и сельскому хозяйству (Food and Agriculture Organization) при ООН деградация плодородных почв, водных ресурсов, сокращение биоразнообразия культурных видов растений приобрели угрожающие размеры, фактически несовместимые с устойчивым развитием сельского хозяйства в глобальном масштабе [1]. Одним из основных компонентов сокращения биоразнообразия, по результатам анализа этой организации, является вытеснение стародавних сортов улучшенными или коммерческими вариантами. Причем несмотря на глобальный характер, этот процесс не контролируется [2].

Кукуруза — одна из наиболее продуктивных и распространенных зерновых культур в мировом земледелии. Среди сельскохозяйственных и выращиваемых растений она занимает третье место по валовым сборам зерна и посевным площадям и уступает только основным продовольственным культурам — пшенице и рису. Центр происхождения кукурузы — Центральная Америка, где произрастает ее наибольшее разнообразие, в т.ч. дикие сородичи. Однако, процесс сокращения биоразнообразия коснулся и кукурузы: утеряно 91 % кукурузы, сокращаются и популяции диких предковых видов кукурузы в Мексике [3].

Таким образом, изучение, сохранение и обогащение генетических ресурсов кукурузы является актуальной генетико-селекционной проблемой в связи с прогрессирующей эрозией генофонда культурных растений. Одной из центральных задач в сохранении биоразнообразия является решение вопроса: что сохранять и как отбирать то, что нуждается в сохранении в первую очередь. На ранних этапах разработки этого направления проводили с помощью фенотипических признаков, далее — с помощью белковых маркеров, а в настоящее время — используя молекулярно-генетические маркеры полиморфизма различных участков ДНК.

С 90-х годов XX века в практику исследования генетического разнообразия включен новый класс молекулярных маркеров, получаемых в результате амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) [4].

Оценка генетического разнообразия генофонда кукурузы в мире. Одна из первых работ по определению пригодности ПЦР-маркеров для идентификации генотипов и детекции родства осуществлена на примере оценки шести инбредных линий и пяти простых гибридов кукурузы [5]. Продемонстрирована возможность идентифицировать инбредных родителей простых гибридов методом произвольно праймированной ПЦР (Arbitrary primed polymerase chain reaction, AP-PCR). Чтобы достигнуть высокого уровня достоверности в определении родительства, авторы предложили использовать три-четыре праймера, продуцирующих большое количество полиморфизмов.

Сходная ПЦР-техника с использованием коротких произвольных праймеров (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) [6] опробована для оценки потомств 24 инбредных линий кукурузы [7]. По данным кластерного анализа линии разделены на шесть групп; наибольшие генетические дистанции выявлены между зубовидными и кремнистыми линиями. RAPD-ПЦР с 54 праймерами использовали для изучения генетического сходства 57 инбредных линий с различным эндоспермом [8]. Полиморфизм между линиями детектирован при использовании 31 праймера. При помощи анализа главных компонент все линии разделены по строению эндосперма на две группы. Корреляции между коэффициентом сходства f , вычисленного на основе метода педигри, и генетическим сходством на основе RAPD-данных были средними и не превышали 0,49.

Генетическое разнообразие в пределах близких зародышевых плазм (19 линий лопающейся и восемь линий зубовидной кукурузы) исследовали [9] с помощью ISSR-ПЦР-метода (Inter-Simple Sequence Repeat, ISSR) [10]. Кластерный анализ сгруппировал линии соответственно их гетерозисным пулам.

Для исследования зародышевой плазмы кукурузы использовали ПЦР-анализ 18 микросателлитных локусов, содержащих ди- и тринуклеотидные повторы [11]. ПЦР-данные сравнивали с параметрами изменчивости и генетической дивергенции, полученными при использовании ПДРФ-маркеров. Подтверждена информативность микросателлитных маркеров для анализа генетического разнообразия кукурузы.

Для характеристики и идентификации 58 инбредных линий кукурузы использовали ПЦР-анализ 131 локуса, содержащего повторы простых последовательностей (Simple Sequence Repeat, SSR) [12]. Кластеризация линий близка к ожидаемой по данным о педигри.

Несколько типов молекулярных маркеров (RAPD, SSR, AFLP) использовано для сравнительного анализа генетического разнообразия инбредных линий кукурузы [13]. Исследовано генетическое разнообразие 93 инбредных элитных линий США и Европы по данным SSR-анализа [14]. В результате разработан уникальный набор из 100 SSR-маркеров, имеющий не менее двух маркеров на хромосомное плечо и средний индекс полиморфности 0,72.

Определение генетических дистанций среди современных и исторических инбредных линий кукурузы по данным ПЦР-анализа 83 микросателлитных локусов осуществляли для оценки того, насколько утрачено генетическое разнообразие среди современных генотипов [15]. Авторы отобрали восемь элитных инбредных линий, представляющих основу современного семеноводства США, и 32 другие инбредные линии, являющиеся исторически важными генотипами в селекции кукурузы. Результаты кластерного анализа хорошо согласовывались с информацией о родословных. Линии из гетерозисных групп BSSS, Reid Yellow Dent и Lancaster сгруппировались в отдельные кластеры. Среднее число аллелей на локус составило 4,9 среди всех генотипов и 3,2 – среди современных линий. Уменьшение числа аллелей на локус не связано с разными размерами выборок. Значение средней генетической дистанции составило 0,65 среди современных линий, 0,67 среди исторических линий и 0,67 среди всех 40 генотипов. Авторы предположили, что генетическое разнообразие современных линий уменьшилось на генном уровне, но не на популяционном. Гибридная селекция кукурузы скорее, сохраняет, чем уменьшает, генетическое разнообразие, по меньшей мере, во время первоначального разделения инбредных линий в BSSS и не-BSSS гетерозисные группы.

Проверку генетического сходства в пределах пяти групп кукурузы (Айодент, кремнистой, зубовидной, сахарной, лопающейся) осуществляли с использованием 218 SSR-маркеров [16]. Кластерный анализ продемонстрировал сходство между европейскими зубовидными линиями (F2, F7, EP1), CO109 и *su1*-линиями сахарной кукурузы США. Линия F64 из Аргентины отдалена от всех других. Закрытая проверка двух источников В37 показала, что версия Университета Purdue содержит набор аллелей, характерных для В73. Пять групп показали устойчивые внутригрупповые гаплотипы.

Проанализировано 60 микросателлитных локусов в выборке из 65 инбредных линий кукурузы, адаптированных к холодным регионам Японии, для оценки генетических различий [17]. Кластерный анализ показал, что северные кремнистые инбредные линии, селективируемые в Японии, сходны с североканадской кремнистой инбредной линией CO12 и европейской кремнистой линией F283, зубовидные инбредные линии, селективируемые в Японии, сходны с BSSS инбредными линиями типа В73. Эти ассоциации соответствуют известным данным родословных линий. Полученные результаты продемонстрировали эффективность SSR-анализа для оценки генетического разнообразия и соотнесения к гетерозисным группам.

Для оценки разнообразия 20 пулов и популяций субтропической кукурузы, широко используемых в селекционных программах CIMMYT, проанализировано 83 SSR-локуса [18]. Отмечено, что родство между популяциями по данным SSR-анализа

прекрасно согласуется с информацией о педигри. С помощью SSR-маркеров также изучили генетическое разнообразие в пределах и между CIMMYT-популяций кукурузы тропической, субтропической и умеренной зон [19-20].

Во временном аспекте исследовали генетическое разнообразие среди 133 современных и ранних сортов кукурузы, произрастающих во Франции в течение последних 50 лет, с помощью ПЦР-анализа 51 SSR-локуса. Сорта сгруппировали соответственно четырем периодам. Генетические различия сократились до 10 % в сортах селекции до 1976 г. сравнительно с таковыми селекции после 1985 г. Незначительные различия отмечены среди сортов двух последних десятилетий, что должно побудить французских селекционеров кукурузы к расширению генетической основы в их селекционных программах [21].

Генетическое разнообразие разновидностей кукурузы Центральной Европы и тенденции его изменения в течение последних 50 лет проанализировали в пулах кремнистой и зубовидной зародышевых плазм с помощью 55 SSR-маркеров [22-23]. Исследовали генетические изменения в наборе 85 коммерческих гибридов относительно их родительских форм, проанализировали изменения частот аллелей SSR-локусов во временном аспекте. Отмечено наличие многочисленных уникальных аллелей, которые отсутствовали в пуле элитной кремнистой зародышевой плазмы и являются источником расширения генетической основы селекционной гермаплазмы.

Определили варибельность в наборе 31 инбредной линии кукурузы из разных гетерозисных пулов с помощью ПЦР-анализа 100 микросателлитных локусов [24]. Идентифицировано 392 фрагмента, среднее значение индекса полиморфности составило 0,54. SSR-маркеры использованы для группирования мексиканских рас кукурузы [25].

С целью оценки потенциала нового поколения генетических маркеров, выявляющих однонуклеотидный полиморфизм, – SNP-маркеров (Single Nucleotide Polymorphism, SNP), обладающих высокой разрешающей способностью, для генотипирования зародышевой плазмы кукурузы создан проект «Maize Single Nucleotide Polymorphism» («DuPont» и «Pioneer», США) [26]. В рамках этого проекта изучено распределение частот встречаемости SNPs, структуру гаплотипов и сцепление в наборе элитных линий кукурузы [27].

SNP-маркеры использовали для оценки генетического разнообразия среди 30 инбредных линий, представляющих коллекцию североамериканской гермаплазмы кукурузы. Для ПЦР использовали праймеры, последовательности которых разработаны на основе кДНК-клонов из EST-коллекции «DuPont» и непосредственном секвенировании продуктов амплификации. Анализ продуктов амплификации 20 локусов, случайно распределенных в геноме, показал высокий уровень однонуклеотидного полиморфизма: одна единичная замена нуклеотида на каждые 70 п. н.; 60 % этих SNPs являлись транзициями и 40 % - трансверсиями. Детектировали одну вставку/делецию на каждые 160 п. н. В результате отобрали восемь линий кукурузы, которые представляли максимальное аллельное разнообразие в пределах оцененных генотипов, для каталогизации SNP-аллелей 502 локусов, отобранных из ESTs, и генов агрономического значения [28]. 433 локуса оказались полиморфными, из них в 215 локусах идентифицировали инсерции/делеции (индели). Из 655 идентифицированных инделей, однонуклеотидные характерны для более половины (54,8 %), также отмечены высокие частоты двух- и трехнуклеотидных инделей, а также инделей длиной шесть (3,4 %) и восемь оснований (2,3 %).

Изучение генетического разнообразия кукурузы в Украине. Первые в Украине исследования генетического разнообразия кукурузы с помощью ПЦР-маркеров начаты в 1995 г. в Южном биотехнологическом центре в растениеводстве Украинской академии аграрных наук (г. Одесса) [29].

Осуществлен анализ наследования ПЦР-фрагментов в F₁-гибридах кукурузы и

возможности его прогнозирования, что имеет большое значение при выборе и оценке молекулярного маркера [30]. Проведено исследование генетического разнообразия 65 инбредных линий кукурузы зарубежной селекции и селекции Селекционно-генетического института – Национального центра сортоизучения и семеноведения из разных гетерозисных групп с помощью RAPD- и SSR-ПЦР-методов [31-38]. В результате кластерного анализа по данным ДНК-профилирования группировка линий совпала с ожидаемой кластеризацией по принадлежности к гетерозисным группам и по данным родословных. Генетические дистанции между линиями из разных гетерозисных групп были выше, чем таковые между линиями из одной группы.

С помощью ПЦР-анализа определили степень генетического родства двух инбредных линий кукурузы – А344 и ВИР44, имеющих практически один и тот же генотип, но репродуцируемых в течение многих лет в разных эколого-географических зонах [39]. Линия ВИР44 выделена из мировой коллекции на Кубанской опытной станции Всероссийского института растениеводства (Россия) и является аналогом линии А344, выведенной в США (Миннесота) и относящейся к гетерозисной группе Рейд. Кластеризация линий на дендрограмме, сконструированной по данным ISSR-анализа, соответствовала году репродукции и демонстрировала увеличение гетерогенности линии ВИР44 с течением времени и достаточно высокую отличимость от линии-аналога А344. Значения генетических дистанций между линиями ВИР44 и А344 варьировали от 0,257 до 0,314. Сравнение данных SSR- и ISSR-анализов (гомогенность по трем локусам, содержащим микросателлитные повторы, и гетерогенность по самим микросателлитным повторам) позволило предположить, что вариабельность ВИР44 и А344 связана с изменчивостью регионов повторяющейся ДНК, а не структурных генов. В процессе селекции и семеноводства линий ВИР44 и А344 затронуты буферные районы ДНК, возможно играющие адаптивную функцию.

Таким образом, чтобы служить эффективной базой для улучшения культур, генетическое разнообразие должно быть тщательно и всесторонне изучено. Развиваемые в мире молекулярно-генетические исследования ориентированы на решение теоретических и прикладных проблем интродукции, изучения, хранения, воспроизведения, идентификации и регистрации и паспортизации генетических ресурсов растений. В эффективности познания генофонда решающая роль принадлежит методам исследования.

Литература

1. www.fao.org
2. Чекалин Н.М., Тищенко В.Н., Баташова М.Е. // Сельскохозяйственный отраслевой сервер. www.Agromage.com.
3. Глазко В.И. // Вестник ВОГиС. – 2008. – Т. 12, № 4. - С. 590-594.
4. Mullis K., Faloona F., Scharf S. // Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. - 1986. - V. 51, N 2. - P. 263-273.
5. Welsh J., Honeycutt R., McClelland M. // TAG. - 1991. - V. 82, N 4. - P. 473-476.
6. Williams J., Kubelic A., Livak K. // NAR. - 1990. – V. 18, N 22. - P. 6531-6535.
7. Kawata M., Yazaki S. // Grassland Science. - 1995. - V. 41, N 3. - P. 251-255.
8. Hahn V., Blankenhorn K., Schwall M. // Maydica. - 1995. - V. 40, N 4. - P. 299-310.
9. Kantety R., Zeng X., Bennetzen J. // Mol. Breed. - 1995. - V. 1, N 4. - P. 365-373.
10. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. // Genomics. - 1994. - V. 20, N 2. - P. 176-183.
11. Taramino G., Tingey S. // Genome. - 1996. - V. 39, N 2. - P. 277-287.
12. Smith J., Chin E., Shu H. // UPOV Document BMT/4/2. - 1997 - 29 p.
13. Pejic I., Ajmorne-Marsan P. // TAG. - 1998. - V. 97, N 8. - P. 1248-1255.
14. Ziegler J., Joe L., Hauser J. // Biochemical and Molecular Techniques and DNA-Profilig in Particular (BMT) of UPOV: Sixth Session of the working Group. Angers, France, 01-03.03.2000. - Document BMT/6/13. Annex III. - P. 1-6.
15. Lu H., Bernardo R. // TAG. – 2001. – V. 103, N 4. – P. 613-617.

16. *Romero-Severson J., Smith J., Ziegler J.* // TAG. – 2001. – V. 103, N 4. – P. 567-574.
17. *Enoki H., Sato H., Koinuma K.* // TAG. – 2002. – V. 104, N 8. – P. 1270-1277.
18. *Reif J., Melchinger A., Xia X.* // TAG. - 2003. – V. 107, N 5. – P. 947-957.
19. *Reif J., Xia X., Melchinger A.* // Crop Sci. – 2004. – V. 44, N 3. – P. 906-913.
20. *Xia X., Reif J., Melchinger A.* // Crop Sci. - 2005. – V. 45, N 6. – P. 2573-2582.
21. *Le Clerc V., Bazante F., Baril C.* // TAG. - 2005. - V. 110, N 2. - P. 294 – 302.
22. *Reif J., Hamrit S., Heckenberger M.* // TAG. - 2005. –V. 111, N 5. – P. 906-913.
23. *Reif J., Hamrit S., Heckenberger M.* // TAG. - 2005. – V. 111, N 5. – P. 838-845.
24. *Heckenberger M., Bohn M., Klein D.* // Crop Sci. - 2005. – V. 45, N 3. – P. 1120-1140.
25. *Reif J., Warburton M., Xia X.* // TAG. – 2006. – V. 113, N 2. - P. 177-185.
26. *Rafalski A.* // Curr. Opin. Plant Biol. – 2002. – Vol. 5, N 1. – P. 94–100.
27. *Ching A., Caldwell K., Jung M.* // Genet. BMC. – 2002. –V. 3, N 19. – P. 19-24.
28. *Bhatramakki D., Dolan M.* // Plant Mol. Biol. – 2002. – V. 48, N 5-6. - P. 539–547.
29. *Sivolap Yu., Brick A., Kozhukhova N.* // 4th International Iran and Russia Conference in Agriculture and Natural Resources. - ShahreKord, Iran, 2004. - P. 70-71.
30. *Кожухова Н.Э., Вербицкая Т.Г.* // Научно-методическое руководство «Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях». - Под ред. Ю.М.Сиволапа. - Киев: Аграрна наука. - 1998. - С. 96-102.
31. *Кожухова Н.Э., Вербицкая Т.Г., Сиволап Ю. М.* // Материалы Международной конференции «Актуальные проблемы биотехнологии в растениеводстве, животноводстве, ветеринарии». - Москва, 1996. - С. 40.
32. *Кожухова Н.Э., Сиволап Ю.М.* // Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов "Наслідки наукових пошуків молодих вчених-аграрників в умовах реформування АПК". - Чабани, 1996. - С. 222.
33. *Сиволап Ю.М., Кожухова Н.Э., Асыка Ю.А.* // Цитология и генетика. - 1997. - Т. 31, N 1. - С. 16-20.
34. *Вербицкая Т.Г., Кожухова Н.Э., Гужва Д.А., Сиволап Ю.М., Соколов В.М.* // Кукуруза и сорго. - 1997. - N 6. - С. 7-11.
35. *Кожухова Н.Э., Сиволап Ю.М., Вареник Б.Ф.* // Тезисы докладов международной конференции "Агробиотехнология растений и животных". – Киев, 1997. - С. 21-22.
36. *Кожухова Н.Э., Сиволап Ю.М.* // Тезисы докладов I Конференции молодых ученых и студентов-химиков Южного региона Украины. – Одесса, 1998. - С. 19.
37. *Сиволап Ю.М., Кожухова Н.Э., Вареник Б.Ф.* // Сборник материалов II Международной конференции «Використання сучасних молекулярно-генетичних розробок у генетико-селекційних дослідженнях». – Киев, 1998. - С. 55.
38. *Сиволап Ю.М., Кожухова Н.Э., Вареник Б.Ф.* // Доклады РАСН. - 1999. - № 6. - С. 3-6.
39. *Кожухова Н.Э., Гудыменко Е.В., Сиволап Ю.М., Вареник Б.Ф.* // Сборник тезисов IV Международной конференции «Геном растений». - Одесса, 2003. - С. 18.

Резюме

Представлены литературные данные и данные собственных исследований, отражающие последние достижения в изучении генетических ресурсов кукурузы (*Zea mays* L.). Показана необходимость использования для оценки и сохранения биоразнообразия новейших ДНК-технологий, в частности, основанных на методе полимеразной цепной реакции.

Наведено літературні дані і дані власних досліджень, що відображають новітні досягнення в вивченні генетичних ресурсів кукурудзи (*Zea mays* L.). Показано необхідність використання для оцінки і збереження біорізноманіття сучасних ДНК-технологій, зокрема, на основі методу полімеразної ланцюгової реакції.

Literature and personal researches data present that demonstrate modern achievements of maize genetic resources studying. It shows necessity of DNA-technologies using for biovariety definition and safe, in particular, methods on basis of polymerase chain reaction.

**КОЦЬ С.Я.¹, МАЛЧЕНКО С.М.¹, ДАЦЕНКО В.К.¹, МАМЕНКО П.М.¹,
ЯКИМЧУК Р.А.²**

¹Інститут фізіології рослин і генетики НАН України

вул. Васильківська, 31/17, м.Київ, Україна

²Уманський державний педагогічний університет ім. П.Г. Тичини

вул. Садова, 2, м.Умань, Україна

Tn5-МУТАНТИ *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM*: ОТРИМАННЯ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХНІХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

Для одержання оптимальних врожаїв зернобобових культур і багаторічних та однорічних бобових трав необхідно поряд із впровадженням високопродуктивних сортів цих рослин застосовувати також для їх передпосівної інокуляції вірулентні, конкурентоспроможні і активні штами відповідних бульбочкових бактерій, здатні утворювати з ними ефективний азотфіксувальний симбіоз.

Із метою отримання перспективних для застосування в сільськогосподарській практиці ризобіальних штамів поряд із класичним методом аналітичної селекції, тобто виділенням і відбором ризобій безпосередньо із корневих бульбочок або з ґрунту, фізичним та хімічним мутагенезом, до останнього часу активно застосовувались методи генетичної інженерії. Спочатку це були методи трансформації і трансдукції, проте через незначну частоту появи мутантів із зміненими симбіотичними властивостями ними перестали користуватись у селекційній практиці [1].

Одним із найефективніших методів отримання нових високоактивних штамів бульбочкових бактерій нині є метод транспозонового мутагенезу, який полягає у здатності рухомих генетичних елементів – транспозонів вбудовуватися в ген-мішень, інактивувати його і мітити маркером стійкості до певних антибіотиків, викликаючи при цьому поодинокі генетичні зміни [4].

При вивченні генетики бульбочкових бактерій досить часто застосовують транспозон Tn5, який має здатність різною мірою проникати в геном окремих ризобіальних видів і штамів, кодуючи при цьому їх стійкість до канаміцину та неоміцину.

Цей транспозон може вбудовуватися в будь-яку точку геному ризобій і викликати в них різні мутації. Для транспозонового мутагенезу використовують плазмідні вектори, до складу яких входить транспозон Tn5. Дані вектори можуть реплікуватися в клітинах *Escherichia coli*, але не в ризобіальних клітинах. Після кон'югаційного перенесення з *E.coli* в ризобію плазмідна елімінується, а транспозон включається в геном бульбочкових бактерій з частотою 10^{-5} – 10^{-7} на клітину, надаючи їм стійкість до певних антибіотиків.

Таким чином, при застосуванні транспозонів у дослідженнях із бульбочковими бактеріями можна мітити гени, що не мають самостійного фенотипового прояву і тим самим уможливити проведення їх генетичного аналізу і первинного скринінгу мутантів зі зміненими симбіотичними властивостями.

На сьогодні переважна більшість робіт із Tn5-мутагенезу бульбочкових бактерій виконана з використанням швидкорослих ризобій. Одним із завдань нашої роботи було встановлення можливості використання вектора pSUP2021::Tn5 для проведення