

1. Лях, В.А. Микрогаметофитный отбор и его роль в эволюции покрытосемянных растений/ В.А. Лях // Цитология и генетика . – 1995. – Т. 29, №6 .– С.76 – 82.
2. Лях, В.А. Гаметный отбор как метод селекции растений // Современные методы и подходы в селекции растений. Кишинев: ШТИИЦ. – 1991. – С.14-21.
3. Жученко, А.А. Роль репродуктивного направления селекции культурных растений / А.А. Жученко // Методические указания по гаметной селекции сельскохозяйственных растений. М.:ВНИИССОК – 2001. – С.7-46.
4. Кильчевский, А.В. Изучение корреляционных связей между признаками спорофита и гаметофита томата в диаллельных скрещиваниях / А.В. Кильчевский, Н.Ю. Антропенко, И.Г. Пугачева // Современное состояние и перспективы развития селекции и семеноводства овощных культур. М.: ВНИИССОК. – 2005. – Т. 2. – С.150-152.
5. Boavida L.S. Temperature as a determinant factor for increased and reproducible in vitro pollen germination in *Arabidopsis thaliana* / L.S. Boavida, S. McCormick // The Plant Journal. – 2007. V 52. – P.570 – 582.

РЕЗУЛЬТАТЫ ПЦР-АНАЛИЗА СОРТООБРАЗЦОВ ГАЛЕГИ ВОСТОЧНОЙ С RAPD-ПРАЙМЕРАМИ

В.И. Бушуева

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия», Горки, Беларусь
vibush@mail.ru

На кафедре селекции и генетики УО «БГСХА» созданы новые сортообразцы галеги восточной, фенотипически различающиеся между собой. Для установления различий между ними на генетическом уровне был использован метод ПЦР-анализа с RAPD-праймерами. Исследования проводились во ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса. Объектами исследований служили три сортообразца, наиболее контрастно различающиеся между собой по морфологическим признакам: СЭГ-1–белоцветковый со светло-зелеными листьями и стеблями, СЭГ-2– сиреневоцветковый с темно-зелеными листьями и стеблями, СЭГ-4– синецветковый с темно-зелеными листьями и стеблями. Препараты образцов ДНК для анализа были получены путем проращивания в чашках Петри 120 семян каждого сортообразца. Навеску средней части ткани 6-дневных проростков (60 мг) использовали для выделения ДНК методом Эдвардса (Edwards et al., 1991) с последующей очисткой смесью хлороформа и изоамилового спирта (24:1). Элетрофореграмма образцов геномной ДНК представлена на рис. 1.

RAPD-анализ проводили в соответствии с методикой, разработанной Вильямсом (Williams et al., 1990), с модификациями. ПЦР- реакцию ставили в программируемом термоциклере «Biokom» (Россия). Фрагменты амплифицированной ДНК получали в результате выполнения программы из трех этапов с чередованием температурных и временных параметров. Основной этап состоял из 37 циклов полимеразной цепной реакции с температурой отжига праймеров 36 °С. Для анализа использовали реактивы фирмы «Syntol» и «Helikon» (Россия). ПЦР-продукты разделяли с помощью электрофореза в 1,4 % агарозном геле (Маниатис, 1983) и визуализировали под ультрафиолетовым светом после прокрашивания в 0,5 мг/мл растворе бромистого этидия.

Образцы ДНК анализировали с использованием 9 праймеров произвольного сиквенса, изначально разработанных фирмой «Oregon Technologies» (США). Перечень праймеров с их сиквенсами приведен в таблице 1. Синтез праймеров был осуществлен фирмой «Syntol».

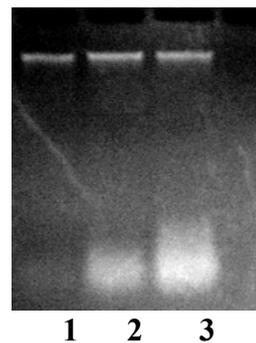
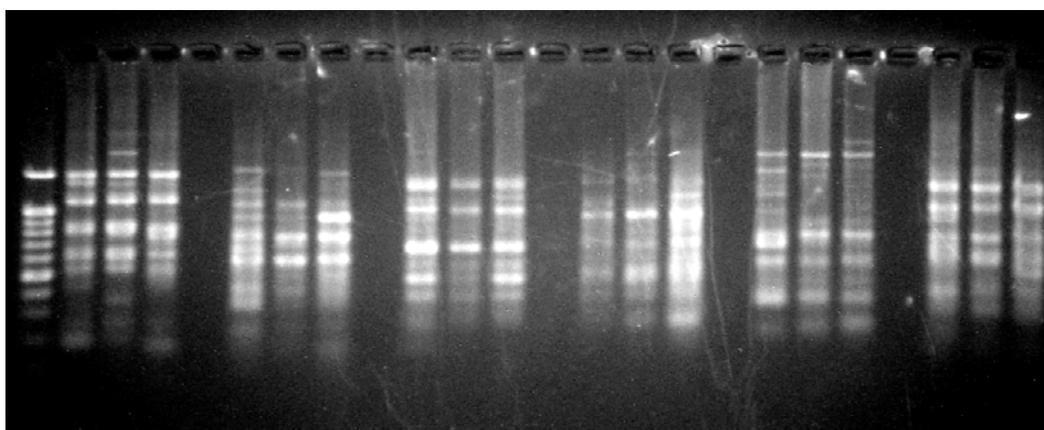


Рис. 1. Геномная ДНК сортообразцов галеги: 1 – «СЭГ-4»; 2 – «СЭГ-2»; 3 – «СЭГ-1».

RAPD-праймеры, использованные для ДНК-амплификации образцов галеги восточной

Пра́ймер	Нуклеотидная последовательность, 5' - 3'
OPQ-9	GGCTAACCGA
OPN-15	CAGGCGACTGT
OPB-121	
OPB-17	AGGGAACAAG
OPC-02	GTGAGGCGTC
OPB-15	GGAGGGTGTT
OPB-07	GGTGACGCAG
OPB-12	CCTTGACGCA
OPB-03	CATCCCCCTG

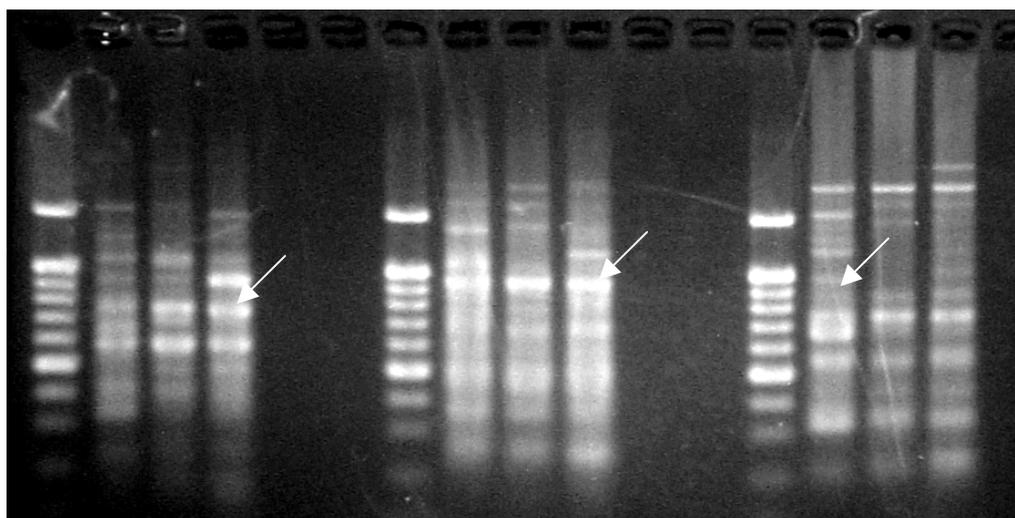
Шесть праймеров из 9 протестированных генерировали продукты амплификации различной степени интенсивности. Это праймеры OPB-15, OPN-15, OPB-121, OPB-17, OPC-02, OPB-07 (рис. 2).



Образец: М 1 2 3 1 2 3 1 2 3 1 2 3 1 2 3 1 2 3
 Праймеры: OPN-15 OPB-07 OPB-15 OPB-121 OPB-17 OPC-02

Рис. 2. ПЦР-анализ образцов галеги с RAPD праймерами:

Образец: М – маркер молекулярной массы (100 bp DNA Ladder), 1 – «СЭГ-4»; 2 – «СЭГ-2»; 3 – «СЭГ-1»..



Образец М 1 2 3 М 1 2 3 М 1 2 3
 Праймер OPB-07 OPB-121 OPB-17

Рис. 3. Электрофореграмма образцов галеги с полиморфными RAPD-праймерами. 1 – «СЭГ-4»; 2 – «СЭГ-2»; 3 – «СЭГ-1»; М - маркер молекулярной массы (100 bp DNA Ladder). Стрелкой показаны полиморфные ампликоны.

В среднем, с каждым праймером было получено 5-6 полос спектра на один образец ДНК. При этом обнаружены специфичные ампликоны: так, с праймером ОРВ-07 фрагмент размером 900 пар оснований, присутствующий в «СЭГ-1», отсутствовал у «СЭГ-4» и «СЭГ-2», а фрагмент размером 1100 bp, генерированный праймером ОРВ-121 в «СЭГ-2», не наблюдался в двух других образцах. При амплификации с праймером ОРВ-17 в «СЭГ-1» идентифицированы фрагменты 700 и 1100 bp, которые отсутствовали у «СЭГ-2» и «СЭГ-4». RAPD-профили тестируемых образцов представлены на рис. 3.

Закключение. Проведенные исследования показали, что созданные в УО «БГСХА» сортообразцы галеги восточной СЭГ-4, СЭГ-2, и СЭГ-1 характеризуются новизной и различаются между собой на генетическом уровне. Таким образом, они могут быть использованы для патентной экспертизы в качестве сортообразцов-эталонов при идентификации новых сортов.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕРЕВЬЕВ ЕЛИ КОЛЮЧЕЙ (*PECEA PUNGENS ENGELM*) В УСЛОВИЯХ ТЕХНОГЕННОЙ НАГРУЗКИ

Т.В. Вострикова

Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

При интродукции растений их выживание в новых районах зависит от соответствия всего комплекса внешних факторов потребностям интродуцентов, от их нормы реакции по отношению к каждому фактору. Требования растений почве менее специфичны, чем к климату, иногда они играют решающую роль при интродукции. Неудачи с выращиванием интродуцентов часто объясняются неправильным выбором почвы [1]. Выбранный биообъект ель колючая (*Picea pungens Engelm*) является достаточно устойчивым в условиях техногенного загрязнения. По мнению некоторых авторов, высокая гетерогенность популяций повышает металлорезистентность, газо- другие типы устойчивости к неблагоприятным воздействиям, в частности, к техногенным, у растений: травянистых и древесных (хвойных и лиственных). На техногенно загрязненных территориях увеличивается число мутаций (соматических и половых) в клетках живых организмов, которое в некоторых случаях превышает уровень спонтанного мутационного процесса. Это приводит к увеличению гетерозиготности и генетического груза популяций. По мнению некоторых авторов [2], рост гетерозиготности повышает возможности перестроек генома, увеличивает пластичность особи, а также усиливает вероятность мутагенных нарушений. Поэтому проанализировав изменение цитогенетических характеристик растений в условиях загрязнения, можно дать рекомендации об использовании изучаемых растений и их семенного потомства. Целью наших исследований было исследование цитогенетических характеристик деревьев ели колючей из района сильного антропогенного загрязнения г. Воронежа, испытывающих стрессовое воздействие выбросов завода синтетического каучука (СК). Показателем гетерогенности популяции служит степень варьирования признаков у отдельных особей в пределах нормы реакции, границы которой в свою очередь детерминированы генотипом. Это справедливо и в отношении цитогенетических характеристик, если их рассматривать как определенные признаки растений. Были изучены следующие цитогенетические характеристики растений: митотический индекс (МИ), доля патологических митозов (ПМ), доля клеток на различных стадиях митоза. Ель колючая, произрастающая на территории г. Воронежа в условиях интродукции, семян практически не дает, поэтому материалом для цитогенетического исследования являлись интеркалярные меристемы распускающихся вегетативных почек. При анализе четырех деревьев *Picea pungens* было выявлено, что МИ у одного из них (дерево №4) был достоверно выше, чем у остальных, хотя число клеток в стадии метафазы было достоверно ниже. Высокое