

значение МИ у данного дерева связано с увеличением количества профаз, которое отмечалось нами ранее и у других объектов в условиях антропогенной нагрузки. У дерева №4 происходит задержка клеток в профазе, когда клетки не могут перейти на следующую стадию митоза в связи с нарушениями. На это указывает повышенное число ПМ и уменьшенное количество метафаз (таблица).

Таблица

№ дерева	МИ, %	МИ без учета профаз, %	ПМ без учета профаз, %	Число клеток по стадиям митоза, %			
				профаз	анафаз	Метафаз	телофаз
1	13,3±0,5	6,4±0,5	6,4±0,5	47,3±2,9	24,5±0,9	14,0±1,5	14,2±1,7
2	13,5±0,3	7,1±0,2	6,8±0,9	47,2±0,9	30,7±1,5	12,7±0,7	9,3±1,2
3	13,5±0,5	7,5±0,5	6,6±0,5	45,0±2,4	30,3±1,6	14,4±1,6	10,7±1,6
4	15,5±0,4	6,9±0,4	11,3±1,6	55,2±2,4	23,6±2,0	11,2±1,3	11,5±0,9

На характер таких изменений может влиять и разная индивидуальная чувствительность организмов к антропогенному стрессу, которая определяется неоднозначностью их нормы реакции по различным признакам, в том числе цитогенетическим характеристикам и газоустойчивости, которую можно оценить с помощью цитогенетического метода. Исходя из данных по этому показателю ПМ и МИ, можно предположить, что деревья ели колючей, произрастающие вблизи завода СК, подверглись сильному стрессу. Таким образом, результаты изучения цитогенетических характеристик деревьев ели колючей свидетельствуют о синергическом эффекте действия на них мутагенов среды.

1. *Базилевская Н.А., Мауринь А.М.* Интродукция растений. Теории и практические приемы: Учебное пособие. Рига: ЛГУ им. П. Стучки, 1984. — 91 с.
2. *Романовский М.Г., Рябоконь С.М.* Гетерозиготность особи как мутагенный фактор // Генетика. – 1992. – №12. – С. 88–97.

МОЛЕКУЛЯРНОЕ КЛОНИРОВАНИЕ ГИПЕРВАРИАБЕЛЬНОЙ ОБЛАСТИ ГЕНОВ СЕМЕЙСТВА ЦЕЛЛЮЛОЗОСИНТАЗ ЛЬНА- ДОЛГУНЦА

Д.В. Галиновский, З.Е. Грушецкая, Л.В. Хотылева, В.В. Титок

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

dimgal200@rambler.ru

Особенностью строения растительных клеток является наличие первичной и вторичной клеточных стенок, существенно различающихся по структурным и механическим свойствам. Одним из важнейших полимеров, входящих в состав как первичной, так и вторичной клеточной стенки, является целлюлоза, в процессе синтеза которой работают несколько различных групп ферментов [1, 2]. Основные участники синтеза целлюлозной микрофибриллы – целлюлозосинтазы (продукты различных представителей целого семейства *CesA*-генов), которые объединены в «розетку», связанную с мембраной [1, 3]. У арабидопсиса обнаружены две группы ферментов целлюлозосинтаз, функционирующих при биосинтезе первичной или вторичной клеточной стенки [3]. Таким образом, от того какие именно целлюлозосинтазы вовлечены в процесс биосинтеза, зависят и физические свойства полимера.

В 2004 году X. Liang и С.Р. Joshi на основании филогенетического анализа HVRII-областей 56-ти *CesA*-генов различных видов растений обнаружили существование как минимум шести классов целлюлозосинтаз [4]. Кроме того, указанные авторы поддержали

идею о том, что именно эта область генов целлюлозосинтаз является классоспецифическим регионом (рис. 1) и показали, что разработанная ими методика клонирования HVRII-региона может быть использована для злаковых культур, а также древесных растений [4].

Цель данной работы состояла в адаптации методики анализа гипервариабельных классоспецифических областей *CesA*-генов для льна-долгунца.

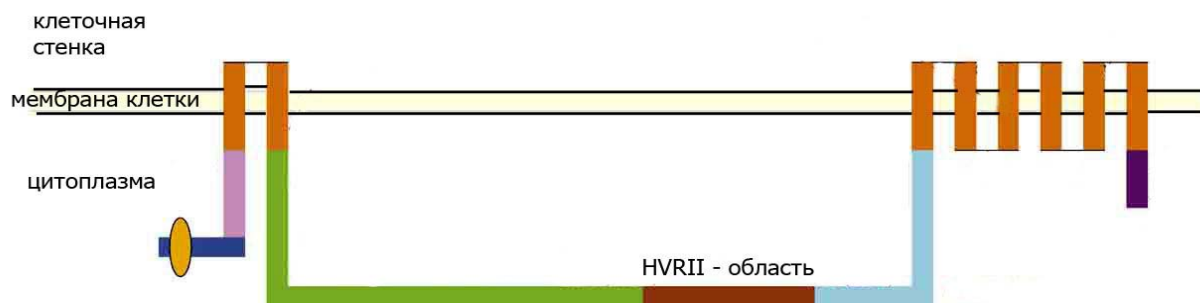


Рис. 1. Схематическое изображение *CesA*-белка высших растений [1].

В качестве растительного материала отбирали стебли растений льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L., сорт Блакит, Беларусь) на стадии быстрого роста. Общую растительную РНК выделяли по методике с использованием тризола. Синтез кДНК осуществляли со специфических праймеров к HVRII-области (рис. 2) с помощью набора RevertAid H Minus First Stand cDNA Synthesis Kit фирмы Fermentas (Литва). Амплифицированный фрагмент HVRII – региона (рис. 2), размером ок. 600 п.н., клонировали в плазмидный вектор pTZ57R в бактерии *E. coli* XL1-Blue с использованием InsTAcloneTM PCR Cloning Kit фирмы Fermentas (Литва). Проверку на наличие необходимой вставки осуществляли с помощью ПЦР со стандартными праймерами к полилинкеру данной плазмиды. В результате было отобрано 113 клонов, которые несли вставку в плазмиду pTZ57R. Причем 98 клонов имели вставку размером 600 – 650 п.н., 12 – 350-150 п.н. и 3 клон несли плазмиду со вставкой размером около 800 п.н.

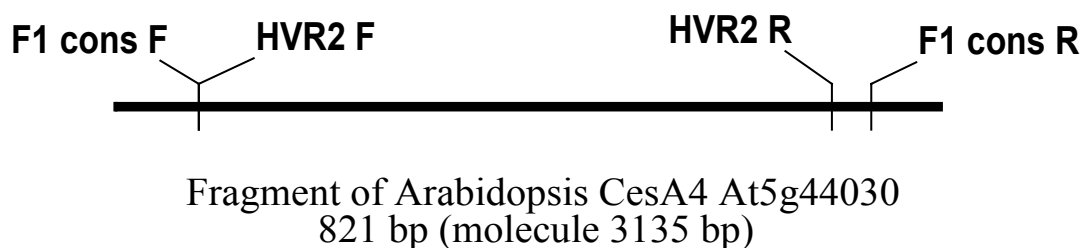


Рис. 2. Фрагмента гена *CesA4* из *Arabidopsis*, несущий HVRII-область. На рисунке отмечены праймеры: 1) F1 cons F/R – использовались для синтеза кДНК; 2) HVR2 F/R – использовались для последующей амплификации HVRII – региона.

Наличие фракции легких фрагментов в данном случае может свидетельствовать о полиморфизме HVRII – областей генов целлюлозосинтазы, однако при секвенировании трех случайно выбранных клонированных фрагментов (два из них были размером ок. 600 п.н., а третий – ок. 250 п.н.) оказалось, что нуклеотидные последовательности данных фрагментов являются практически идентичными. Это обстоятельство свидетельствует о том, что легкие фрагменты являются артефактом эксперимента, т.е. могут быть результатом прерванного по каким-либо причинам синтеза фрагментов большей длины. Идентичность фрагментов размером ок. 600 п.н. между собой составила 96% по нуклеотидной последовательности, и

64% (по нуклеотидной последовательности) с HVRII-областью *CesA4* из *Arabidopsis thaliana* (NM_123770.3). При сравнении с последовательностями, содержащимися в базах данных при помощи программы nucleotide blast с использованием алгоритма discontinuous megablast, наибольшая идентичность (80%) была обнаружена с целлюлозосинтазой (*CesA1*) *Populus tremula* × *Populus tremuloides* (gb[AY573571.1]).

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о перспективности использования анализа гипервариабельных классоспецифических областей *CesA*-генов для льна-долгунца. В дальнейшем планируется изучить органо- и стадийспецифичность экспрессии различных классов целлюлозосинтаз в растениях льна-долгунца и представителей других подвидов льна для молекулярно-генетической идентификации факторов, определяющих качество формирующегося льноволокна.

1. C.P. Joshi, S.D. Mansfield The cellulose paradox – simple molecule, complex biosynthesis // Current Opinion in Plant Biology – 2007. – V. 10. – P. 220-226.
2. В.В. Туток, В.Н. Леонтьев, И.В. Федоренко, С.В. Кубрак, З.Е. Грушецкая, С.И. Юренкова Биосинтез целлюлозы: современный взгляд и концепции // Труды БГУ «Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем». 2007. - Вып. 2. - С. 111-121.
3. R.A. Burton, N. Farrokhi, A. Bacic, G.B. Fincher Plant cell wall polysaccharide biosynthesis: real progress in the identification of participating genes // Planta – 2005. – V. 221. – P. 309-312.
4. X. Liang, C.P. Joshi Molecular cloning of ten distinct hypervariable regions from the cellulose synthase gene superfamily in aspen trees // Tree Physiology – 2004. - V. 24. – P. 543-550.

СЕЛЕКЦИЯ СЕКАЛОТРИТИКУМ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И НОВЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ

И.А. Гордей, Н.Б. Белько, О.М. Люсиков, И.С. Щетько, И.Ф. Латушка

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

I.Gordej@igc.bas-net.by

Селекционно-генетический анализ созданного генофонда тритикале показал, что у них недостаточно реализован генетический потенциал адаптивности ржи. Тритикале, как правило, уступают озимой ржи по морозо- и зимостойкости, устойчивости к грибным болезням (корневые гнили, снежная плесень, септориоз). Эти проблемы обусловлены неполной экспрессией генома ржи.

С целью усиления экспрессии генома ржи, повышения адаптивного потенциала тритикале и приспособленности к почвенно-климатическим условиям Беларуси проведены исследования по созданию нового типа ржано-пшеничных амфидиплоидов с цитоплазмой ржи – секалотритикум [1].

Создание секалотритикум направлено на:

- коадаптацию и достижение сбалансированной экспрессии геномов исходных видов, стабильности полигенома и повышение адаптивного потенциала тритикале;
- расширение генофонда и увеличение генотипической изменчивости пшенично-ржаных амфидиплоидов;
- повышение зимостойкости, устойчивости к болезням и экологической адаптивности;
- расширение ареала распространения тритикале.

Синтез секалотритикум основан на гибридизации высокоурожайных сортов тетраплоидной ржи (RRRR, 4x=28) и гексаплоидного тритикале (AABBRR, 6x=42) с последующим беккроссом на исходные тритикале (рис. 1).