

**Міністерство освіти і науки України  
Всеукраїнський науковий інститут селекції  
Уманський національний університет садівництва  
Національний дендрологічний парк «Софіївка» НАНУ  
Українське товариство генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова**

**МАТЕРІАЛИ XIII МІЖНАРОДНОЇ  
НАУКОВОЇ КОНФЕРЕНЦІЇ**

**«СЕЛЕКЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНА  
НАУКА І ОСВІТА»**

**(Парієві читання)**

**18–20 березня 2024 року**

Умань – 2024

**Селекційно-генетична наука і освіта (Парієві читання).** Матеріали XII Міжнародної наукової конференції (18–20 березня 2024 р.). Умань, 2024. 188 с.

У збірнику тез висвітлено результати наукових досліджень науковців України, Великої Британії, Молдови, Німеччини, Польщі з актуальних питань генетики, селекції рослин і біотехнології.

### **РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ**

Полторецький С. П. – д. с.-г. н., професор, академік АН ВО України (відповідальний редактор), УНУС;

Рябовол Л. О. – д. с.-г. н., професор (заступник відповідального редактора), УНУС;

Сержук О. П. – к. с.-г. н., доцент (відповідальний секретар), УНУС;

Господаренко Г. М. – д. с.-г. н., професор, УНУС;

Єщенко В. О. – д. с.-г. н., професор, УНУС;

Копитко П. Г. – д. с.-г. н., професор, УНУС;

Яценко А. О. – к. с.-г. н., професор, УНУС;

Рябовол Я. С. – д. с.-г. н., доцент, УНУС;

Любченко А. І. – к. с.-г. н., доцент, УНУС;

Новак Ж. М. – к. с.-г. н., доцент, УНУС;

Діордієва І. П. – к. с.-г. н., доцент, УНУС;

Крижанівський В. Г. – к. с.-г. н., УНУС;

Любченко І. О. – к. с.-г. н., УНУС;

Черно О. Д. – к. с.-г. н., доцент, УНУС;

Карнаух О. Б. – к. с.-г. н., доцент, УНУС;

Кравченко В. С. – к. с.-г. н., доцент, УНУС;

Третьякова С. О. – к. с.-г. н., доцент, УНУС;

Білоножко В. Я. – д. с.-г. н., професор, ЧНУ ім. Б. Хмельницького;

Кунах В. А. – д. біол. н., професор, член-кореспондент НАНУ, ІМБГ НААНУ;

Грабовий В. М. – к. біол. н., с. н. с., НДП «Софіївка» НАНУ;

Опалко А. І. – к. с.-г. н., професор, НДП «Софіївка» НАНУ;

Парій М. Ф. – к. біол. н., ВНІС.

***Рекомендовано до друку вченою радою факультету агрономії УНУС,  
протокол № 5 від 26.03.2024 р.***

*За достовірність опублікованих матеріалів відповідальність несуть автори.*

© Уманський національний  
університет садівництва,  
2024.

## ВИКОРИСТАННЯ ГЕН-СПРЯМОВАНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ПОПУЛЯЦІЙ *GENTIANA LUTEA* L.

**М. З. Прокоп'як, Л. Р. Грицак, Н. М. Дробик**

*Тернопільський національний педагогічний університет*

*імені Володимира Гнатюка, Україна*

*e-mail: mosula@chem-bio.com.ua*

У сучасних популяційно-генетичних дослідженнях представників родини *Gentianaceae* успішно застосовують методи молекулярно-генетичного аналізу на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням різних типів маркерів, зокрема RAPD, ISSR, AFLP та ін. [4, 5, 7, 8]. В останнє десятиріччя накопичення інформації про функціонально-важливі ділянки геному, зокрема кодувальні та регуляторні ділянки генів, стимулювало розробку нових методів ПЛР-аналізу, що базуються на використанні праймерів гомологічних до консервативних мотивів цих ділянок. До таких належать CDDP (conserved DNA-derived polymorphism)- та RGAP (resistance gene analog polymorphisms)-аналіз. CDDP-маркери можуть бути безпосередньо пов'язані із кодувальними ділянками функціонально важливих генів відповіді на стрес [3], RGAP-маркери – із кодувальними ділянками стійкості до хвороб (наприклад, борошнистої роси, жовтої іржі та ін.).

Як модельний об'єкт обрано рідкісний високогірний вид роду *Gentiana* L. – тирлич жовтий (*Gentiana lutea* L.), який відноситься до категорії вразливих і потребує охорони. Ураховуючи цінність цієї лікарської рослини та зростаючу потребу у сировині *G. lutea*, а також загрозу зменшення природних запасів, необхідно провести заходи з охорони та відновлення його популяцій. Надзвичайно важливо розробляти стратегії збереження та управління цим видом, виходячи із генетичних даних.

Метою нашої роботи було дослідження популяційно-генетичної різноманітності *G. lutea* за допомогою CDDP- і RGAP-маркерів.

Генетичну варіабельність *G. lutea* оцінювали на основі аналізу 86 зразків із шести популяцій, розташованих на полонині Лемська (Lem), між вершинами гір Шешул і Павлик (Sh), на горі Пожижевська (Pozh) (хребет Чорногора); на полонині Крачунеска (Kr) та між горама Трояска і Татарука (Tr) (хребет Свидівець). Виділення ДНК, гель-електрофорез продуктів ампліфікації, умови проведення ПЛР наведено у роботах [1, 2, 6]. Для аналізу використали 6 CDDP-праймерів (WRKY-A-R, WRKY-B, MYB, ERF-F, MADS-A, ABP1–2) і 6 пар RGAP-праймерів (Cre3Ploop + Cre3-k3, NLRR-INV1 + NLRR-INV2, Pto kin3 + Pto kin4, RLRR for + RLRR rev, XLRR for + XLRR rev, XLRR-INV1 + XLRR-INV2) [6]. Показники генетичного поліморфізму популяцій (частку поліморфних ампліконів (P), очікувану гетерозиготність (He), індекс Шеннона (S)) та розподіл загальної генетичної мінливості на міжпопуляційну та внутрішньопопуляційну (AMOVA) розраховували з використанням програми GenAlEx 6.5.

Частка унікальних ампліконів у середньому для шести популяцій становила 6 % від загальної кількості врахованих фрагментів за обома видами ПЛР-маркерів. За результатами CDDP-аналізу природні популяції з хребта Чорногора характеризувалися вищими показниками генетичного поліморфізму (Sh:  $0,110 \pm 0,017$  (He),  $0,160 \pm 0,025$  (S), 27,5% (P); Lem:  $0,152 \pm 0,018$  (He),  $0,229 \pm 0,025$  (S), 45% (P); HT:  $0,172 \pm 0,019$  (He),  $0,253 \pm 0,027$  (S), 45% (P)), порівняно з популяціями із Свидівецького масиву (Kr:  $0,095 \pm 0,016$  (He),  $0,139 \pm 0,023$  (S), 24,2% (P); Tr:  $0,089 \pm 0,015$  (He),  $0,134 \pm 0,022$  (S), 25,8% (P)). Аналогічно вищі показники природних популяцій з хребта Чорногора (Sh:  $0,177 \pm 0,023$  (He),  $0,263 \pm 0,032$  (S), 48,8 % (P); Lem:  $0,106 \pm 0,019$  (He),  $0,160 \pm 0,028$  (S), 33,3 % (P); HT:  $0,106 \pm 0,019$  (He),  $0,159 \pm 0,028$  (S), 32,1 % (P)), порівняно із свидівецькими (Kr:  $0,077 \pm 0,017$  (He),  $0,118 \pm 0,025$ , 25 % (P); Tr:  $0,075 \pm 0,017$  (He),  $0,112 \pm 0,025$  (S), 22,6 % (P)) отримані і за даними RGAP-ПЛР. Причому найбільше і найменше значення відрізнялося за показниками у популяцій із різних хребтів приблизно у 2–2,4 рази. Очевидно, це пов'язано із еколого-географічними умовами їх зростання, популяційними характеристиками і режимом використання. Чорногірські популяції зростають в умовах заповідання, на відміну від свидівецьких, які зазнають значного пасторального навантаження.

Найнижчим рівнем поліморфізму за усіма показниками (P, He, S) характеризувалася агропопуляція з г. Пожижевська (CDDP:  $0,056 \pm 0,012$  (He),  $0,089 \pm 0,018$  (S), 18,3% (P); RGAP:  $0,051 \pm 0,013$  (He),  $0,083 \pm 0,019$  (S), 22,6% (P)). Отримані показники були меншими від показників популяцій з хребта Свидівець. Очевидно тривалий період онтогенезу однієї рослини *G. lutea* (до 100 років) були тими факторами, що стримували зростання генетичного різноманіття у ній.

Одержані дані за обома типами маркерів були схожими (порівняння середніх показників досліджених популяцій) (CDDP:  $0,112 \pm 0,007$  (He),  $0,167 \pm 0,010$  (S), 31 % (P); RGAP:  $0,099 \pm 0,008$  (He),  $0,149 \pm 0,011$  (S), 30,8 % (P)). Встановлено, що отримані за допомогою CDDP- і RGAP-маркерів результати генетичної різноманітності *G. lutea* дещо нижчі, порівняно з одержаними нами раніше даними за допомогою RAPD- та ISSR-маркерів [1, 2]. Такі відмінності можуть бути зумовлені особливостями структури геному досліджуваного виду, зокрема співвідношенням кодувальної і некодувальної ДНК.

Аналіз молекулярної варіанси (AMOVA) показав, що у складі загальної генетичної гетерогенності виду, 68 % (RGAP) і 71 % (CDDP) генетичної різноманітності *G. lutea* припадає на міжпопуляційні відмінності, а частка внутрішньопопуляційного поліморфізму становить 32 % (RGAP) і 29 % (CDDP). Очевидно, ізоляція популяцій існує впродовж тривалого часу і призвела до накопичення значних міжпопуляційних відмінностей.

Отже, за допомогою CDDP- і RGAP-маркерів досліджено генетичну різноманітність п'яти природних і однієї інтродукованої популяцій *G. lutea*. Отримані дані свідчать про значну дивергенцію популяцій тирличу жовтого. Показники генетичного поліморфізму популяцій з хребта Чорногора були

вищими у порівнянні із такими у рослин з хребта Свидовець. Найнижчі показники генетичної гетерогенності характерні для агропопуляції з гори Пожижевська. Нижчі результати оцінки рівня генетичного поліморфізму *G. lutea* за допомогою CDDP- і RGAP-маркерів, у порівнянні з RAPD- і ISSR-маркерами, підкреслюють важливість вибору системи ефективних маркерів, як на основі кодуючих, так і некодуючих послідовностей для кожного об'єкту дослідження. Більш достовірні дані вдається отримати лише при одночасному використанні кількох типів генетичних маркерів, що дозволяє порівняти різні ділянки геному і виявити генетичну відмінність досліджуваних зразків за ними.

### Література

1. Мосула М. З., Конвалюк І. І., Мельник В. М., Дробик Н. М. Оцінка генетичного поліморфізму чорногірських популяцій *Gentiana lutea* L. (Gentianaceae) з Українських Карпат : RAPD-аналіз. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. Київ : Логос, 2013. Т. 13. С. 80–83.
2. Мосула М. З., Мельник В. М., Конвалюк І. І., Дробик Н. М., Андрєєв І. О., Кунах В. А. Генетична структура і диференціація популяцій *Gentiana lutea* L. (Gentianaceae) в Українських Карпатах. *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів*. 2014. Т. 12, № 2. С. 174–183.
3. Collard B. C. Y., Mackill D. J. Conserved DNA-Derived Polymorphism (CDDP): a simple and novel method for generating DNA markers in plants. *Plant Mol. Biol. Rep.* 2009. Vol. 27, № 4. P. 558–562.
4. Dettori C. A., Serreli L., Lombraña A. C., Fois M., Tamburini E., Porceddu M., Fenu G., Cogoni D., Bacchetta G. The genetic structure and diversity of *Gentiana lutea* subsp. *lutea* (Gentianaceae) in Sardinia: further insights for its conservation planning. *Caryologia: international journal of cytology, cytosystematics and cytogenetics*. 2018. Vol. 71, No. 4. P. 489–496. doi: 10.1080/00087114.2018.1505266.
5. Ge X. – J., Zhang L. – B., Yuan Y. – M. Strong genetic differentiation of the East-Himalayan *Megacodon stylophorus* (Gentianaceae) detected by Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR). *Biodivers. Conserv.* 2005. Vol. 14, № 4. P. 849–861.
6. Mosula M. Z., Andreev I. O., Mel'nyk V. M., Konvalyuk I. I., Drobyk N. M., Kunakh V. A. Molecular markers to assess genetic diversity of *Gentiana lutea* L. from the Ukrainian Carpathians. *Plant Genetic Resources*. 2015. Vol. 13 (3). P. 266–273. doi: 10.1017/S147926211400104X.
7. Raica P., Pamfil D., Botez C., Gaboreanu M.I., Pătrascu B., Kovacs K. The assesment of two populations of *Gentiana nivalis* by RAPD markers. *Buletin USAMV-CN*. 2006. Vol. 62. P. 228–231.
8. Zhang X. – L., Yuan Y. – M., Ge X. – J. Genetic structure and differentiation of *Gentiana atunsiensis* W. W. Smith and *G. striolata* T. N. Ho (Gentianaceae) as revealed by ISSR markers. *Bot. Journal of the Linnean Society*. 2007. Vol. 154. P. 225–232.

<i>Медведев А. О., Балабак А.Ф., Садовський Г.</i>	ВПЛИВ СОРТУ Й МЕТАМЕРНОСТІ ПАГОНА НА УКОРІНЮВАНІСТЬ ЗЕЛЕНИХ СТЕБЛОВИХ ЖИВЦІВ ХЕНОМЕЛЕСУ ЯПОНСЬКОГО ( <i>CHAENOMELES JAPONICA</i> (THUMB.) LINDL EX SPACH.) В УМОВАХ ПРАВОБЕРЕЖНОГО ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ ..... 101
<i>Новак Ж. М., Новак М. А., Кравченко Д. І.</i>	ВИСОТА РОСЛИН ГЕКСАПЛОЇДНИХ ВИДІВ ПШЕНИЦІ В УМОВАХ УМАНСЬКОГО НУС ..... 105
<i>Новак Ж. М., Коцюба С. П., Голуб Н. С.</i>	КІЛЬКІСТЬ ПРОДУКТИВНИХ СТЕБЕЛ СОРТОЗРАЗКІВ ЯЧМЕНЮ ЯРОГО ..... 107
<i>Новак Ж. М., Ненька О. В., Кобець Я. С.</i>	МАСА 1000 ЗЕРЕН ГІБРИДНИХ ПОПУЛЯЦІЙ F <sub>6</sub> ПШЕНИЦІ ЯРОЇ ТВЕРДОЇ В УМОВАХ УМАНСЬКОГО НУС ..... 109
<i>Новак Ж. М., Ненька О. В., Синьоок І. В.</i>	ВИСОТА РОСЛИН ГІБРИДНИХ ПОПУЛЯЦІЯ F <sub>5</sub> ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ ЯРОЇ..... 110
<i>Новак Ж. М., Ненька О. В. Синьоок І. В., Мельник Н. Ю.</i>	ВАРІАЦІЯ ВИСОТИ РОСЛИН СОРТОЗРАЗКІВ ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ ЯРОЇ ЗАЛЕЖНО ВІД ГЕНОТИПУ ТА ПОГОДНИХ УМОВ РОКУ ДОСЛІДЖЕНЬ..... 112
<i>Новак Ж. М., Ненька О. В., Бабінець П. І.</i>	ХАРАКТЕРИСТИКА КОЛОСА КРАЩИХ СОРТОЗРАЗКІВ ЯЧМЕНЮ ЯРОГО В УМОВАХ УМАНСЬКОГО НУС ..... 114
<i>Новак Ж. М., Синьоок І. В., Лисенко В. М.</i>	ДОВЖИНА ВЕРХНЬОГО (КОЛОСОНОСНОГО) МІЖВУЗЛЯ ГІБРИДНИХ ПОПУЛЯЦІЯ F <sub>5</sub> ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ ЯРОЇ..... 118
<i>Омельчук С. В., Сидоров А. В., Парій М. Ф.</i>	ПРИСКОРЕНА ЯРОВИЗАЦІЯ РІПАКУ ОЗИМОГО .. 120
<i>Прокоп'як М. З., Грицак Л. Р., Дробик Н. М.</i>	ВИКОРИСТАННЯ ГЕН-СПРЯМОВАНИХ МАРКЕРІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ПОПУЛЯЦІЙ <i>GENTIANA LUTEA</i> L..... 122