

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**Факультет агротехнологій та природокористування**  
**Кафедра селекції та насінництва імені професора М.Д. Гончарова**

Допущено до захисту

Завідувач кафедри ..... І. В. Собран.

« ....» .....20... р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
**ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ «МАГІСТР»**

**МОЛЕКУЛЯРНА ДІАГНОСТИКА СОРТІВ ЗЕРНОВИХ**  
**КУЛЬТУР З ВИКОРИСТАННЯМ RAPD-ПРАЙМЕРІВ**

**за спеціальністю 201 «Агрономія»**

Виконав .....  
*Підпис* *Прізвище, ініціали*

Група .....  
*Назва групи*

Науковий керівник .....  
*Підпис* *Прізвище, ініціали*

Суми – 2024

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ**  
**СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**Факультет агротехнологій та природокористування**

Кафедра \_\_\_\_\_

Освітній ступінь - "Магістр"

Спеціальність – 201 "Агрономія"

**“ЗАТВЕРДЖУЮ”:**

**Завідувач кафедри**

\_\_\_\_\_  
 " \_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 202\_ р.

**ЗАВДАННЯ**  
**на кваліфікаційну роботу**

\_\_\_\_\_  
 ПІБ студента

1. Тема роботи " \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ "

Затверджено наказом по університету від “ \_\_\_\_ ” \_\_\_\_\_ 202\_ р. № \_\_\_\_\_

2. Термін здачі студентом закінченої роботи на кафедру \_\_\_\_\_.

3. Вихідні дані до роботи:

- місце проведення досліджень: \_\_\_\_\_

- методичне забезпечення: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

- схеми досліджу: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

4. Перелік завдань, які будуть виконуватися в роботі: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Керівник кваліфікаційної роботи \_\_\_\_\_

Завдання прийняв до виконання \_\_\_\_\_

Дата отримання завдання « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 202\_ р.

*Наталич Я. С.*

**Молекулярна діагностика сортів зернових культур з використанням RAPD-праймерів**

*Спеціальність 201 Агрономія, Ступінь вищої освіти Магістр*

*Заклад освіти Сумський національний аграрний університет*

*Суми, 2024 рік*

Кваліфікаційна робота присвячена питанню застосування молекулярних методів, зокрема ПЛР-діагностики, в практиці агрономічних досліджень. Відмічається зменшення генетичного різноманіття польових культур, неможливість поліпшення показників основних господарських ознак сортів і, як наслідок, зниження ефективності класичних методів селекції – гібридизації та добору. Молекулярні методи (RAPD, ISSR та ін.) дозволяють виявляти цільові гени (або групи генів) і здійснювати добір генотипів за наявності цих самих генів.

Дослідження проводили у 2024 році на базі Навчально-наукової лабораторії ПЛР-діагностики. Об'єктом досліджень виступали сорти пшениці озимої та ячменю вітчизняної та зарубіжної селекції: Колонія, Еміль, Юлія, Кубус, Депот, Етана, Петрос, Акордіне, Командор, Богун, Аграрій.

У результаті молекулярної ідентифікації у всіх без виключення зразків злакових культур виявлено локуси, що зчеплені з показниками якісних показників борошна пшениці та білків та ізоферментів ячменю.

Результати генетичної спорідненості всередині сукупності сортів як пшениці озимої, так і ячменю не виявили особливих відмінностей.

**Висновки.** Результати молекулярно-генетичної ідентифікації сортів пшениці озимої та ячменю з використанням олігонуклеотидних праймерів виявили по одному локусу у фрагментах середньої довжини. Поліморфних фрагментів не виявлено, що може свідчити також про специфічність праймерів, однак загальна результативність ПЛР свідчить про ефективність використаних праймерів. Виявлені у ході дослідження гени можуть бути використані як цільові. Добір напряму за цільовим геном є запорукою ефективності селекційної

роботи, а також дозволяє уникнути тривалої перевірки рослинного матеріалу у польових умовах, а значить, дозволяє скоротити витрати часу та праці на створення нового селекційного матеріалу.

**Ключові слова:** пшениця озима, ячмінь, сорт, ДНК, праймер, локус, кластер, молекулярні методи.

*Natalich Ya. S.*

**Molecular diagnostics of grain varieties using RAPD primers**

*Specialty 201 Agronomy, Higher Education Degree Master*

*Educational Institution Sumy National Agrarian University*

Sumy, 2024

The qualification work is devoted to the issue of the application of molecular methods, in particular PCR diagnostics, in the practice of agronomic research. There is a decrease in the genetic diversity of field crops, the impossibility of improving the indicators of the main economic characteristics of varieties and, as a result, a decrease in the effectiveness of classical breeding methods - hybridization and selection. Molecular methods (RAPD, ISSR, etc.) allow to identify target genes (or groups of genes) and select genotypes based on the presence of these same genes.

The research was conducted in 2024 on the basis of the Educational and Scientific Laboratory of PCR Diagnostics. The object of research was the varieties of winter wheat and barley of domestic and foreign selection: Koloniya, Emil, Yuliya, Kubus, Depot, Etana, Petros, Acordine, Komandor, Bohun, Agrariy.

As a result of molecular identification, all samples of cereal crops without exception revealed loci linked to the indicators of the quality indicators of wheat flour and proteins and isoenzymes of barley.

The results of genetic kinship within the set of varieties of both winter wheat and barley did not reveal any special differences.

**Conclusions.** The results of molecular genetic identification of winter wheat and barley varieties using oligonucleotide primers revealed one locus each in medium-length fragments. No polymorphic fragments were detected, which may also indicate

the specificity of the primers, however, the overall efficiency of PCR indicates the efficiency of the primers used. The genes identified during the study can be used as target genes. Direct selection for the target gene is the key to the efficiency of breeding work, and also allows you to avoid lengthy testing of plant material in field conditions, which means it allows you to reduce the time and labor costs for creating new breeding material.

**Keywords:** winter wheat, barley, variety, DNA, primer, locus, cluster, molecular methods.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПШЕНИЦІ ТА ЯЧМЕНЮ, ЇХ СЕЛЕКЦІЯ ТА ОСНОВИ ЗАСТОСУВАННЯ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ДІАГНОСТИКИ В СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВІ.....	9
1.1. Коротка характеристик пшениці та ячменю.....	9
1.2. Проблема селекції та генетична різноманітність пшениці та ячменю..	13
1.3. Молекулярна діагностика за допомогою маркерів у сільському господарстві.....	15
1.4. Метод RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....	16
1.5. Впровадження молекулярних маркерів у дослідження генетичного поліморфізму.....	18
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	20
2.1. Характеристика досліджуваного матеріалу.....	20
2.2. Ізоляція генетичного матеріалу та проведення полімеразної ланцюгової реакції у присутності RAPD-праймерів.....	27
РОЗДІЛ 3. МОЛЕКУЛЯРНА ДІАГНОСТИКА СОРТІВ ЗЛАКОВИХ КУЛЬТУР З ВИКОРИСТАННЯМ RAPD-ПРАЙМЕРІВ.....	30
3.1. Селекційні перспективи на якісний склад борошна зернових культур та виявлення цільових генів.....	30
3.2. Молекулярно-генетична ідентифікація сортів пшениці озимої та ячменю.....	34
3.3. Визначення генетичної відстані між сортами досліджуваних культур..	36
ВИСНОВКИ.....	38
ПРОПОЗИЦІЇ.....	39
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	40
ДОДАТКИ.....	42

## ВСТУП

Сільське господарство є однією з основних галузей економіки, де генетична селекція та вдосконалення рослинних сортів займають центральне місце у підвищенні урожайності, стійкості до хвороб та стресових факторів. Злакові культури, такі як пшениця, кукурудза, ячмінь та рис, є основою продовольчої безпеки в багатьох країнах світу. Тому пошук нових, високопродуктивних та стійких сортів є важливим завданням для сучасної агрономії та селекції.

Однак традиційні методи селекції, засновані на зовнішніх ознаках рослин, часто не дозволяють отримати точну інформацію про генетичний склад сортів і їх різноманіття. У зв'язку з цим, молекулярні методи діагностики стають невід'ємною частиною сучасної селекційної практики. Одним із таких методів є використання маркерів поліморфізму ДНК, серед яких особливе місце займає метод **RAPD** (Random Amplified Polymorphic DNA), що дозволяє виявляти генетичну варіативність серед сортів рослин без необхідності знання точних послідовностей генів.

Метод RAPD має низку переваг, зокрема, швидкість і доступність, оскільки він не вимагає складного обладнання та попереднього знання послідовностей генів. Це робить його потужним інструментом для молекулярної ідентифікації сортів злакових культур, аналізу їх генетичної різноманітності та моніторингу процесів адаптації до змін клімату, хвороб та інших стресових факторів. Сучасний стан досліджень показує, що методи молекулярної діагностики, зокрема RAPD, можуть значно покращити ефективність селекційної роботи та сприяти розвитку більш адаптованих і високопродуктивних сортів злакових культур.

Зважаючи на ці фактори, **актуальність** теми курсової роботи "Молекулярна діагностика сортів злакових культур з використанням RAPD-праймерів" є очевидною, оскільки вона дозволяє глибше зрозуміти роль молекулярних методів у сучасній агрономії та сприяє розвитку більш

ефективних підходів до вирішення проблем генетичної різноманітності, стійкості до захворювань і покращення врожайності злакових культур.

**Метою роботи** є молекулярна діагностика сортів злакових культур з використанням RAPD-праймерів, що пов'язані з якісним складом борошна пшениці озимої, а також білків та ізоферментів ячменю.

Відповідно до мети у роботі було поставлено наступні **завдання**:

- 1) Виділити ДНК сортів пшениці озимої та ячменю шляхом хімічного лізису.
- 2) Здійснити підбір молекулярних праймерів.
- 3) Провести клонування отриманої ДНК із застосування RAPD праймерів методом ПЛР.
- 4) Провести візуалізацію продуктів агіпліфікацію шляхом використання методу гель-електрофозу.
- 5) Провести інтерпретацію отриманих результатів.

**Об'єкт досліджень.** Сучасні сорти пшениці озимої та ячменю.

**Предмет дослідження.** Молекулярні особливості генетичного поліморфізму сортів пшениці озимої та ячменю.

**Методи дослідження.** Лабораторні методи (методи молекулярної діагностики):

1. Отримання тіньових проростків пшениці та ячменю шляхом пророщування насіння на фільтрувальному папері.
2. Виділення ДНК досліджуваних сортів з подальшою очисткою препаратів.
3. Проведення полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з використанням олігонуклеотидних RAPD-праймерів.
4. Візуалізація продуктів ПЛР в агарозному гелі.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше проведено молекулярну діагностику сучасних сортів пшениці озимої та ячменю з використанням олігонуклеотидних RAPD-праймерів (за ознакою якісного складу борошна у пшениці, а також білків та ізоферментів у ячменю).

**Науково-практичне значення одержаних результатів.** Виявлено локуси генів пшениці озимої та ячменю, що зчеплені з ознаками якісного складу борошна у пшениці, а також білків та ізоферментів у ячменю.

**Апробація результатів роботи.** Результати досліджень доповідалися студентом на наукових студентських конференціях:

1. Наталич Я. С. RAPD-аналіз у селекційних дослідженнях пшениці озимої. *Матеріали Всеукраїнської наукової конференції студентів та аспірантів, присвяченої Міжнародному дню студента (18-22 листопада 2024 р.)*. Суми, 2024. С. 129.

**Структура та обсяг роботи.** Робота включає 47 сторінок, 3 розділи, 17 малюнків. Кількість літератури 26 джерел, один додаток.

# РОЗДІЛ 1

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПШЕНИЦІ ТА ЯЧМЕНЮ, ЇХ СЕЛЕКЦІЯ ТА ОСНОВИ ЗАСТОСУВАННЯ МОЛЕКУЛЯРНОЇ ДІАГНОСТИКИ В СІЛЬСЬКОМУ ГОСПОДАРСТВІ

### 1.1. Коротка характеристика пшениці та ячменю

Злакові культури займають центральне місце в сільському господарстві, оскільки вони є основними джерелами харчування для людини та кормами для тварин. Вони також мають важливе значення для виробництва кормів, біоенергії та промислових продуктів. Серед злакових культур пшениця та ячмінь є одними з найбільш важливих культур в агрономії, оскільки їх вирощування охоплює значні площі в різних кліматичних зонах світу.

Пшениця (*Triticum*) – найважливіша продовольча культура у світі. Відповідно до статистичних даних пшениця являється основним продуктом харчування для більшості людей нашої планети. Саме це визначає стратегічну важливість даної культури для продовольчої безпеки людства. Пшениця – це основне джерело борошна для хліба й інших продуктів, що складають основу харчування людей. Вона широко застосовується як у харчовій промисловості, так і у кормовиробництві.

Рід *Triticum* відноситься до родини *Poaceae* і включає два основні види: пшениця тверда (*Triticum durum*) і пшениця м'яка (*Triticum aestivum*). Остання виступає основною культурою для виробництва борошна і хліба, а *Triticum durum* застосовується переважно для виготовлення якісних макаронних виробів. Кожен вид пшениці включає різні сорти, що відрізняються за висотою рослин, за стійкістю до хвороб, урожайністю, а також іншими агрономічними властивостями [1].

Пшениця є рослиною, що вирощується в умовах помірного клімату і потребує достатньої кількості вологи для нормального росту. Основними характеристиками, які враховуються під час селекції пшениці, є її стійкість до

посухи, хвороб, а також здатність адаптуватися до різних типів ґрунтів і кліматичних умов. Генетична різноманітність серед сортів пшениці є важливим фактором для її покращення та селекції. Майбутній врожай озимих культур розпочинається восени. Яровизація сортів пшениці триває 20–65 днів, наприкінці осені не завжди настає глибокий спокій. Чутливість рослин до агротехнічних прийомів та природних умов впливає на їх розвиток та ростові процеси. Реакція на технологічні методи вирощування змінюється залежно від біологічних характеристик сортів, погодних умов протягом року і родючості ґрунту. У степовій зоні на чорноземах важливим при вирощуванні пшениці озимої є вибір попередника.

Ячмінь (*Hordeum vulgare*) – одна з найстаріших культур, що вирощується людством. Вона використовується переважно як кормова культура у тваринництві, відіграє важливе значення у виробництві пива і кормових добавок. Ячмінь виступає важливим компонентом агропромислових комплексів і застосовується для виготовлення кормів для тварин і у харчовій промисловості для виробництва солоду.

Залежно від погодних умов протягом року, біологічних характеристик пшениці озимої змінюється їх реакція на технологічні методи вирощування. В умовах Степу на чорноземах особливо важливим є вибір попередників для вирощування сортів пшениці.

*Hordeum vulgare* є однією з найстаріших культур, яка вирощується людьми. В основному він використовується як кормова культура для тварин, але також має значення у виробництві пива і кормових добавок. Ячмінь є важливим компонентом в агропромислових комплексах, де він застосовується для виготовлення кормів для худоби, а також в харчовій промисловості для виробництва пивоварного солоду. Українськими аграріями намолочено 8,62 млн т ячменю з 2,35 млн га площ.

Ячмінь належить до родини *Poaceae*, роду *Hordeum*, і має два основних підвиди: ячмінь однозерняний та ячмінь багатозерняний. Ячмінь є однією з найбільш морозостійких культур серед злакових, що дозволяє вирощувати його

в умовах суворого клімату. В межах виду також існують різні сорти, які мають різні характеристики, зокрема стійкість до хвороб, швидкість росту та врожайність.

Ячмінь не потребує великих витрат води і може добре розвиватися на різних типах ґрунтів, що робить його перспективною культурою для вирощування в районах з обмеженими водними ресурсами. Селекційна робота над ячменем зосереджена на підвищенні стійкості до хвороб, а також покращенні якості зерна для пивоварної промисловості. Генетична варіабельність серед сортів ячменю також є важливим аспектом для селекції, оскільки дозволяє отримати нові сорти, які краще адаптуються до змін клімату та стресових факторів [2].

За даними Міністерства аграрної політики та продовольства України. За 2024 рік загалом намолочено 21,7 млн т пшениці та 5,5 млн т ячменю (рис. 1.1). Внутрішнє споживання пшениці складає близько 6 млн тон, тобто Україна зібрала пшениці втричі більше, ніж складає споживання всередині країни. Внутрішнє споживання ячменю складає близько 3 млн тон на рік [3].



Рис.1.1. Врожай зернових, зернобобових та олійних культур у 2024 році [4].

За статистичними даними вирощування зернових відіграє потужне значення для економіки і продовольчої безпеки людства, оскільки зернові культури складають значний відсоток ВВП у складі аграрного сектору країни, забезпечуючи державний бюджет, доходи фермерів і паралельно сприяючи розвитку інших галузей економіки – харчової промисловості, переробки і транспорту.

Зерно – основний продукт харчування багатьох країн. Україна як один із найбільших виробників, має ключову роль, забезпечуючи продовольчу безпеку як внутрішнього ринку, так і зовнішнього. Українське зерно надходить до більше ніж 100 країн, що забезпечує продовольство багатьох регіонів світу, у тому числі тих країн, які мають обмежені можливості для виробництва власних зернових культур.

Вирощування зернових культур дає робочі місця мільйонам людей, від фермерів до працівників сільськогосподарської техніки, логістичних компаній та підприємств з переробки. Це особливо важливо для сільських регіонів, де сільське господарство є основним джерелом доходу для місцевих громад.

Зернові культури сприяють розвитку агротехнологій в Україні. Введення новітніх технологій в агровиробництво, таких як використання нових сортів, органічне землеробство, автоматизація та цифровізація процесів, дозволяє підвищувати врожайність та якість зерна. Поступове зростання виробничих потужностей у цій галузі також дозволяє Україні стати лідером інноваційних досліджень в агрономії [5].

Важливість зернового експорту для України підтверджується значним внеском у валютні надходження та національний бюджет. Таким чином, вирощування зернових культур має стратегічне значення для економічного, соціального та політичного розвитку України. Це дозволяє зміцнювати продовольчу незалежність країни, підтримувати стабільність аграрної економіки та укріплювати її позиції на міжнародних ринках.

## **1.2. Проблеми селекції та генетична різноманітність пшениці та ячменю**

Селекція пшениці та ячменю є складним і тривалим процесом, що включає багато етапів, таких як відбір найкращих генотипів, виведення нових сортів і тестування їх на стійкість до хвороб, шкідників, посухи та інших стресових факторів. Селекційні програми часто орієнтовані на покращення таких характеристик, як врожайність, стійкість до хвороб, якість зерна, а також адаптація до різних агрокліматичних умов [6].

Селекція пшениці та ячменю включає розробку нових сортів із покращеними характеристиками, до яких належать врожайність, посухостійкість, стійкість до хвороб, якість зерна та зимостійкість. Основними методами селекції пшениці та ячменю, які умовно поділяються на традиційна і сучасні, є:

Традиційні методи селекції:

### **1. Гібридизація (перехресне запилення):**

- Це один з основних методів селекції пшениці та ячменю, який полягає в отриманні гібридів із бажаними властивостями шляхом схрещування двох сортів або видів. Так, можливо схрестити сорт пшениці високої врожайності із сортом, що має високу стійкість до хвороб. Результатом цього є отримання потомства із якого проводиться відбір особин із потрібними ознаками, що стосуються якості зерна і стійкості до погодних умов і хвороб.

### **1. Вибір та добір за фенотипом:**

- Цей метод полягає в доборі особин або рослин, які найбільше відповідають бажаним ознакам, і подальшому їх розмноженні. Наприклад, серед рослин одного покоління обирають найбільш стійкі до хвороб, високоврожайні або морозостійкі екземпляри, а потім з них проводять відбір на наступні покоління. При масовому відборі вибирається багато рослин з популяції, і

всі вони розмножуються далі. Це дозволяє підтримувати генетичну різноманітність і сприяти адаптації рослин до змінних умов середовища.

### 3. Інбридинг і аутбридинг:

- **Інбридинг** – це схрещування між родинно-спорідненими рослинами, що може призвести до підвищення стабільності характеристик (але може знижувати загальну адаптивність).
- **Аутбридинг** – це схрещування між не спорідненими рослинами, що може призвести до підвищення життєздатності потомства завдяки гетерозису.[7]

### До сучасних методів селекції відносять:

#### 1. Молекулярний маркер:

- Молекулярні маркери – це ділянки ДНК, які пов'язані з певними властивостями рослини (наприклад, стійкість до хвороб або врожайність). Селекціонери використовують молекулярні маркери для швидкого виявлення бажаних генів у рослин без необхідності чекати на повний цикл вирощування, що дозволяє прискорити процес селекції, забезпечити його точність та ефективність.

#### 1. Генетична трансформація (генна інженерія):

- Цей метод включає введення генів від інших рослин, бактерій або навіть тварин для покращення певних властивостей. Наприклад, можна впровадити гени, які відповідають за стійкість до патогенів, посухи або морозу. Генетична трансформація дає можливість створювати рослини з новими властивостями, які не можуть бути отримані традиційними методами схрещування.

#### 2. Клонування та біотехнології:

- Клонування дозволяє розмножувати найкращі особини з бажаними характеристиками без ризику втрати важливих генетичних ознак. Біотехнології також включають використання технік культур тканин для розмноження та отримання генетично однорідних рослин.

#### 4. Редагування генома (CRISPR/Cas9):

- Ця технологія дозволяє максимально точно змінювати певні гени в рослинах і створювати сорти із конкретними, бажаними властивостями, такими як підвищена стійкість до посухи або хвороб.
- CRISPR/Cas9 є дуже потужним інструментом для точного редагування геному без необхідності вводити чужорідні гени.

Інтеграція традиційних та молекулярних методів дає змогу використовувати переваги обох підходів, підвищуючи швидкість, точність та ефективність селективного процесу [8].

Кожен із вище зазначених методів має свої переваги та обмеження і часто вони застосовуються у комбінації для досягнення найкращих результатів. Так, традиційні методи селекції дають можливість створювати нові сорти із високими показниками адаптації до клімату, у той час як молекулярні методи дають можливість точно і дуже швидко досягти бажаних характеристик – стійкості рослин до стресових факторів – хвороб, нестачі вологи тощо [9].

Проте важливою проблемою є висока гомогенність сучасних сортів, що знижує їх стійкість до нових хвороб та патогенів. Відсутність достатнього рівня генетичної різноманітності в популяціях може призвести до зниження продуктивності в умовах зміни клімату. Для цього необхідно проводити постійний моніторинг і підтримувати генетичну варіативність у процесі селекції.

Молекулярні методи діагностики відіграють важливу роль у вирішенні цих проблем, дозволяючи точніше і швидше визначати генетичні особливості сортів, виявляти поліморфізм та генетичну варіабельність на молекулярному рівні. Вони дозволяють на ранніх стадіях селекції відбирати рослини з бажаними властивостями, що значно підвищує ефективність селекційного процесу [10].

### **1.3. Молекулярна діагностика за допомогою маркерів у сільському господарстві**

Молекулярна селекція в сільському господарстві має доволі багато різноманітних методів, які дозволяють виявляти, оцінювати та використовувати

генетичні маркери для покращення характеристик рослин і тварин. Ці методи дозволяють прискорити процес селекції, зменшити витрати часу та ресурсів, а також підвищити точність вибору найкращих сортів чи ліній.

Даний метод включає використання різноманітних молекулярних маркерів для виявлення генетичних відмінностей між індивідами або популяціями. Основні типи маркерів включають:

- **RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA):** Використовує випадкові праймери для ампліфікації ДНК, що дозволяє виявити поліморфізм (різноманітність) без потреби в знанні послідовності геному.

- **SSR (Simple Sequence Repeats) або Microsatellites:** Виявлення варіацій у повторюваних секвенціях ДНК. Це дозволяє точно визначити генетичну різноманітність і використовувати маркери для селекції.

- **SNP (Single Nucleotide Polymorphisms):** Виявлення однонуклеотидних змін у ДНК. SNP є одним з найбільш точних і поширених маркерів, який використовується для асоціації з важливими господарськими ознаками.

Молекулярна селекція є важливим інструментом у сучасному сільському господарстві. Вона дозволяє значно підвищити ефективність селекції, скоротити час до отримання нових сортів або порід, а також покращити якість та стійкість агрономічних культур і тварин до стресів. Однак для досягнення оптимальних результатів важливо поєднувати молекулярні методи з традиційними методами селекції, враховуючи специфіку кожного виду чи породи [11-14].

#### **1.4. Метод RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)**

Методи молекулярної діагностики, такі як RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), використовуються для вивчення генетичної різноманітності та моніторингу поліморфізму ДНК серед різних сортів злакових культур. Використання RAPD для пшениці і ячменю дозволяє не тільки проводити точну

ідентифікацію сортів, а й оцінювати рівень генетичної різноманітності в популяціях цих культур.[15]

Застосування методу RAPD для молекулярної діагностики сортів пшениці та ячменю дозволяє:

1. Ідентифікувати поліморфізм між сортами, що допомагає виявити нові маркери стійкості до хвороб.
2. Оцінювати генетичну різноманітність та виявляти потенційно корисні генотипи для подальшого використання в селекційних програмах.
3. Прогнозувати реакцію сортів на зміни клімату та інші стресові фактори, що дозволяє вибирати сорти з високим потенціалом для конкретних умов вирощування.

Ці фактори роблять методи молекулярної діагностики, зокрема RAPD, надзвичайно перспективними для покращення процесу селекції пшениці та ячменю і сприяють створенню нових, більш стійких до зовнішніх чинників сортів злакових культур.

Окрім методу RAPD, існує ряд інших молекулярних методів, які активно використовуються в селекції рослин і генетичних дослідженнях. Кожен із цих методів має свої особливості, переваги та обмеження, що визначають їх застосування в залежності від цілей дослідження [16–17].

#### **Переваги методу RAPD:**

- **Швидкість та дешевизна:** Порівняно з іншими молекулярними методами, RAPD не потребує складного обладнання або попередньої інформації про генетичну послідовність досліджуваного організму.
- **Висока чутливість:** Метод дозволяє виявляти навіть незначні зміни в ДНК.
- **Безпека та ефективність:** Відсутність потреби у глибоких знаннях генома кожного досліджуваного виду дає можливість швидко отримати результат.

#### **Недоліки методу RAPD:**

- **Неоднозначність результатів:** Залежно від умов реакції, RAPD може давати варіабельні або невідтворювані результати, що обмежує його використання для точного генотипування.
- **Відсутність стандартизації:** Порівняння результатів між різними лабораторіями або дослідженнями може бути ускладнене через варіативність умов експерименту.

Метод RAPD є корисним інструментом для молекулярної селекції зернових культур, допомагаючи покращити відбір та розвиток нових сортів. Однак для досягнення максимальної точності під час роботи з молекулярними маркерами, його часто комбінують з іншими методами, такими як SSR (Microsatellites) чи SNP (Single Nucleotide Polymorphisms) [18-22].

### **1.5. Впровадження молекулярних маркерів у дослідження генетичного поліморфізму**

Нині є очевидним той факт, що в основі ідентифікації сортів і відбору генотипів із важливими господарськими ознаками лежить дослідження генетичного поліморфізму. Так, з метою оцінки генетичного різноманіття сортів пшениці м'якої, моніторингу змін генофонду сортів вітчизняної селекції і розробки методів використання ДНК-маркерів у межах селекційних програм України, проводиться велика кількість наукових пошуків генетичного поліморфізму сортового матеріалу пшениці на молекулярному рівні, а також генетичних джерел і колекцій у ПБЦ – Південному біотехнологічному центрі рослинництва. На його базі детально вивчалися молекулярно-генетичні характеристики ліній і сортів м'якої пшениці з використанням ПЛР-аналітичних методів, серед яких RAPD, SSR, ISSR з метою диференціації та реєстрації генотипів *Triticum aestivum* L.

У ПБЦ була розроблена ДНК-технологія для каталогізації й ідентифікації сортів *T. aestivum* L. У лабораторії закладу вперше визначено алельний склад 40 МС-локусів українських сортів пшениці. Це дало можливість унікально

генотипувати ці сорти. Також проведено дослідження змін генетичного різноманіття пшениці півдня України за період науково обґрунтованих селекційних програм (1912–2002 рр.), порівнюючи алельне розмаїття МС-локусів у стародавніх та сучасних сортах [23].

Використання ДНК-маркерів дозволило підвищити ефективність оцінки генетичної варіабельності за локусами, що визначають як якісні, так і кількісні ознаки пшениці. Зокрема, завдяки молекулярним маркерам виявлено, що українські сорти часто мають комплекси або «піраміди» генів короткостебловості, і частота алелів цих генів змінювалася протягом періоду селекції. Найбільш поширеним є алель Rht8c, який успішно використовується в селекції по всій Україні. Алель Rht-D1b зустрічається у 77 % сучасних сортів, тоді як Rht-B1b присутній значно рідше. Аналіз 27 сортів (1997–2009 рр.) показав, що домінує гаплотип Rht8c Ppd-D1a, що свідчить про перевагу генотипів з обома генами – короткостебловості Rht8c та нечутливості до фотоперіоду Ppd-D1a. Дослідження ліній з різною висотою рослин показало, що генотипи з алелями Rht8c і Ppd-D1a мають на 25 % нижчі рослини, на 17 % більшу масу тисячі зерен, більш компактний колос та скорочений період вегетації [24-26].

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Характеристика досліджуваного матеріалу

Дослідження за темою кваліфікаційної роботи проводили на базі навчально-наукової лабораторії ПЛР-діагностики Сумського НАУ.

Досліджуваним матеріалом виступали сорти пшениці та ячменю вітчизняної та зарубіжної селекції.



Рис. 2.1. Пшениця озима Колонія.

Належить до сортів інтенсивного типу, середньоросла. Відзначається високою зимостійкістю та здатністю до регенерації, посухостійкістю, стійкістю до вилягання та осипання зерна. Високостійка до фузаріозних патогенів та церкоспорильозних корневих гнилей.

Стійкість до вилягання оцінюється на 8,9 балів, стійкість до осипання 8,8 балів, стійкість до корневих гнилей – 8, стійкість до септоріозу – 7, до фузаріозу – 8, бурої іржі – 7, борошнистої роси – 8 балів.

Норма висіву складає 4,5 – 5,0 схожих насінин на 1 га. Завдяки своїй пластичності можливе використання сорту за будь-яких технологічних обставин, зокрема різних попередників та строків сівби, при мінімальному обробітку ґрунту, технології no-till.



Пшениця КВС Еміль від KWS	
Рекомендована зона	Група стиглості
<b>полісся, лісостеп, степ</b>	<b>середньостиглий</b>
Потенціал врожайності, т/га	Виробник
<b>9</b>	<b>KWS</b>
Рік реєстрації	Напрямок використання
<b>2017</b>	<b>зерновий</b>
Якість	Маса 1000 зерен, г
<b>філер</b>	<b>50</b>

Рис. 2.2. Пшениця озима КВС Еміль.

Середньостиглий сорт, що належить до класу В. Пшениці цього класу мають порівняно невисокий вміст білка та меншу глибину забарвлення.

Сорт відзначається високою зимостійкістю. Завдяки невисокому стеблу дуже слабо вилягає. Стійкий до різноманітних патогенів. Так, до борошнистої роси – 8,8 балів, бурої іржі – 8,7, фузаріозу – 9.

Рекомендований для вирощування у всіх ґрунтово-кліматичних зонах України.



**М'яка озима пшениця**

**ЮЛІЯ - JULIE**

Ранньостиглий сорт  
Вегетаційний період 255-275 днів.

**Переваги сорту**

- Найпопулярніший сорт озимої пшениці у Чехії
- Юлія – "молодша сестра" Богемії, яка успадкувала від неї найкращі якості (високу стабільну врожайність в усіх кліматичних зонах і високу якість зерна).
- Відмінні показники по всіх хлібопекарським якостям.

**Морфологічні особливості**

Різновид - безоста (лютесценс)  
Кущення - потужне  
Колосіння - раннє  
Дозрівання - раннє  
Маса 1000 насінин - 50 г  
Повнота колосу - низька  
Висота рослини - 97 см  
Вміст клейковини - 27,0-27,4 %  
Вміст білка - 13,0-13,5 %

**Агронімічні показники**

Стійкість до кореневих гнилей - висока  
Стійкість до осипання - дуже висока  
Стійкість до бурої іржі - дуже висока  
Стійкість до борошнистої роси - висока  
Зимостійкість - висока  
Стійкість до посухи - дуже висока  
Стійкість до клопа-черепашки - дуже висока  
Стійкість до вилягання - дуже висока

**Терміни та норма висіву**

Норму висіву від 3,2 до 4,0 млн. схожих насінин/га

**selgen** **TVK SEED**

Рис. 2.3. Сорт пшениці озимої Юлія.

М'яка озима пшениця ранньостиглої групи. Різновид – безоста (лютесценс). Добре реагує на вирощування за інтенсивним способом.

Загальна висота рослин досягає 92 см, тип колосу середньощільний, циліндричний. Сорт відзначається потужним куцненням, раннім колосінням та дозріванням, а також високою врожайністю та високими показниками хлібопекарських якостей через високий вміст клейковини та середній вміст білку.

Відзначається високою зимостійкістю та посухостійкістю, а також стійкістю до хвороб, зокрема кореневої гнилі, бурої іржі, борошнистої роси.

Генетичний потенціал урожайності складає 11 т/га, тривалість вегетаційного періоду – 274 доби.



**ОЗИМА ПШЕНИЦЯ**

**КУБУС  
CUBUS**

- Високоврожайний сорт м'якої озимої пшениці, рекомендований для вирощування в зоні Полісся та Лісостепу.
- Сорт інтенсивного типу вирощування.
- Висока продуктивна куцність, що дає можливість зменшити норму висіву до 3,0 - 4,0 млн зерен/га.
- Сорт відноситься до класу А, що відповідає українському класу цінної пшениці.

*Різновид - беласта (лютесценс)*

**Морфологічні особливості:**

- Потужне куцнення.
- Колосіння - раннє.
- Дозрівання - раннє.
- Маса 1000 насінин - висока.
- Ламість колосу - низька.
- Висота рослин - 85 см.

**Норма висіву:**  
від 3,0 - 4,0 млн/га схожих насінин

**Термін сівби:**  
20 вересня - 25 жовтня

**ПЕРЕВАГИ СОРТУ:**

СТІЙКІСТЬ ДО ВИЛГАННЯ      ПОСУХОСТІЙКІСТЬ

**Агрономічні характеристики:**

- Стійкість до корневих гнилей - висока.
- Стійкість до осипання - дуже висока.
- Стійкість до бурої іржі - дуже висока.
- Зимостійкість - середня.
- Стійкість до посухи - дуже висока.
- Стійкість до клопа-черепашки - дуже висока.

**KWS**  
Селекція Вашого прибутку

Рис. 2.4. Сорт пшениці озимої Кубус.

Високоврожайний сорт інтенсивного типу, різновид лютесценс. Відноситься до класу А, що відповідає українському класу цінної пшениці. Відзначається потужним куцненням, раннім дозріванням та колосінням.

Агрономічні характеристики високі. Сорт дуже стійкий до посухи, вилягання та осипання зерна, зимостійкість середня. Рекомендований для вирощування у зоні Полісся та Лісостепу. Норма висіву складає 3,0-4,5 млн. схожих насінин на гектар.

**ПШЕНИЦЯ ОЗИМА**

**RHT ДЕПОТ** Середньопізній

Висока стійкість до вилягання | Стійкість до вилягання | Висока стійкість до борошнистої роси

**Агронімічні характеристики (1-9):**

Висота рослин	8
Висота колосів	8
Стійкість до вилягання	9
Маса зерна	5

**Толерантність до хвороб (1-9):**

Борошниста роса	8
Септоріоз	8
Фузаріоз колосу	7
Фузаріоз стебла	7
Церкоспорельоз	8
Піренофороз	7
Бурої та жовтої іржі	8
Церкоспорельоз	7

**Рекомендації щодо зони вирощування (1-9):**

Висота рослин	8
Висота колосів	8
Маса зерна	8
Стійкість до вилягання	9
Маса зерна	6
Стійкість до борошнистої роси	8
Стійкість до септоріозу	8
Стійкість до фузаріозу колосу	7
Стійкість до фузаріозу стебла	7
Стійкість до церкоспорельозу	8
Стійкість до піренофорозу	6
Стійкість до бруї та жовтої іржі	8
Стійкість до церкоспорельозу	7

**Рекомендована норма та строки сівби:**

Строк сівби	Маса насіння	Кількість зерен на 1 га
15-20 вересня	3,2-3,8	8
20-25 вересня	3,0-4,2	8
25 вересня - 1 жовтня	4,2-4,8	8

**Вихід колосу:** Середньопізній

**Різновид:** Лютесценс (безостий)

**Група якості:** Цінна А

**Маса тисячі зерен:** 50-55 г

**РHT ДЕПОТ** – найефективніший серед сортів колосового типу, адаптний формувати найвищу середню масу тисячі зерен на рівні 55 грамів з максимальною озверністю колоса.

**CANADIAN SEEDS**

Рис. 2.5. Сорт пшениці озимої Депот.

Належить до групи середньопізніх сортів, різновид лютесценс. Особливістю даного сорту є поєднання високого потенціалу врожайності (13 т/га) та відмінної якості зерна.

Рослини формують потужний листковий апарат, стійкі до вилягання та посухи. Загалом сорт толерантний до строків посіву.

Господарські ознаки наступні: загальна висота рослин – 85,7 см, маса 1000 насінин – 55 г. Сорт стійкий до борошнистої роси, септоріозу, фузаріозу колосу, піренофорозу, бруї та жовтої іржі, церкоспорельозу.

**Пшениця Етана від Дойче Заатфеределунг АГ**

3053

Рекомендована зона: **полісся, лісостеп, степ**

Група стиглості: **середньоранній**

Рік реєстрації: **2016**

Напрямок використання: **зерновий**

Якість: **філер**

Рис. 2.6. Сорт пшениці озимої Етана.

Сорт компенсаційного типу, високоадаптивний для посіву на різних ґрунтах. Відзначається високою резистентністю до основних хвороб листя (бура та жовта іржа, септоріоз листя), а також фузаріозу.

Через розлогий габітус рослини менше схильні до пошкодження взимку та навесні, а завдяки високому потенціалу весняного кущення сорт здатен компенсувати зрідження, що виникають восени та взимку.

Хлібопекарські властивості сорту збалансовані через високе число падіння, що дуже актуально наприкінці стадії дозрівання, коли надлишок опадів може викликати погіршення якості зерна.



Рис. 2.7. Сорт пшениці озимої Петрос.

Належить до групи середньоранніх сортів і володіє високою адаптивністю та пластичністю до попередників і сівозмін. Має еректоїдне розміщення листя, завдяки чому забезпечується висока активність фотосинтезу. Ці особливості дозволяють сформувати міцну соломину, що відзначається високою стійкістю до прикореневого вилягання.

Рекомендовані зони вирощування – Полісся та Лісостеп.



**Ячмінь Аграрій** від Інститут рослинництва ім. В.Я.Юр'єва

371

Рекомендована зона	Група стиглості
<b>полісся, лісостеп, степ</b>	<b>середньостиглий</b>
Потенціал врожайності, т/га	Виробник
<b>9,0</b>	<b>НААН України</b>
Рік реєстрації	Напрямок використання
<b>2014</b>	<b>зерновий</b>
Вміст білка, %	Маса 1000 зерен, г
<b>14</b>	<b>41</b>

Рис. 2.8. Сорт ячменю Аграрій.

У Державному реєстрі сортів рослин, придатних до поширення в Україні в 2014 році. Різновид – нутанс. Середньостиглий за терміном досягання.

Сорт зернового напрямку використання, високоадаптивний, напівінтенсивний. Потенціал врожайності дорівнює 9 т/га. Загальна висота рослин складає 60 – 70 см, маса 1000 зерен – 46 г, вміст білка – до 14%. Натура зерна – 670 г/л.

Відзначається високою стійкістю до гельмінтоспорозу та борошнистої роси. Рекомендований для всіх зон вирощування.



**Ячмінь МІП Богун** від Миронівський інститут пшениці імені В.М. Ремесла

93

Рекомендована зона	Група стиглості
<b>полісся, лісостеп, степ</b>	<b>середньостиглий</b>
Потенціал врожайності, т/га	Виробник
<b>2,6-5,0</b>	<b>НААН України</b>
Рік реєстрації	Напрямок використання
<b>2017</b>	<b>зерновий</b>
Вміст білка, %	Маса 1000 зерен, г
<b>11,8-13,2</b>	<b>39,6-49,6</b>

Рис. 2.9. Сорт ячменю Богун.

Належить до середньостиглої групи сортів, період від сходів до колосіння складає 60 діб. Відзначається стійкістю до посухи, а також вилягання та обсіпання.



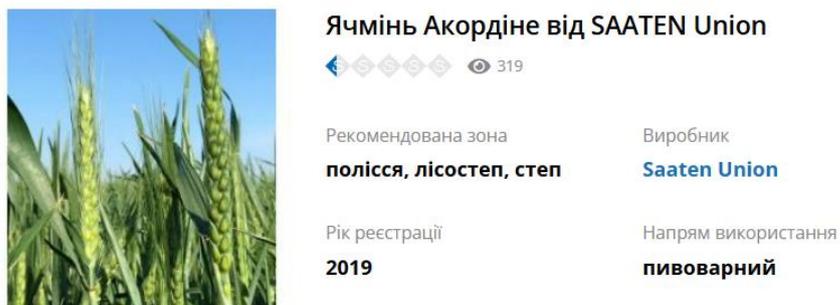


Рис. 2.11. Сорту ячменю Акордіне.

Дворядний ячмінь середньоранньої групи стиглості та зернового напрямку використання. Сорту збалансований, з високою стабільністю основних показників, пластичний до різних строків посіву. Вегетаційний період складає 87 днів. Стійкий до вилягання, осипання та посухи.

За габітусом середньорослий (65 см), крупнозерний (маса 1000 зерен складає 53,4 г) з вирівняністю зерна 97,3%. Потенціал продуктивності складає 10 т/га.

Рекомендовані зони вирощування – Полісся, Лісостеп, Степ.

## 2.2. Ізоляція генетичного матеріалу та проведення полімеразної ланцюгової реакції у присутності RAPD-праймерів

Молекулярно-генетичні дослідження включають ряд обов'язкових етапів:

- 1) екстрагування нуклеїнових кислот з подальшою очисткою та перевіркою стану препарату;
- 2) клонування досліджуваної ДНК шляхом ампліфікації, або багаторазового циклічного нагрівання та охолодження матеріалу у присутності відповідних специфічних ферментів;
- 3) візуалізація продуктів ампліфікації з подальшою оцінкою та інтерпретацією результатів.

Для зручності виділення геномної ДНК зернівки пшениці та ячменю пророщували на фільтрувальному папері у термостаті при температурі +22 С° з

метою отримання тінювих проростків. Такий матеріал відзначається великим виходом ДНК та легкістю для механічного руйнування.

Проростки гомогенізували у пробірках Eppendorf об'ємом 1,5 мл з додаванням 700  $\mu$ л лізуючого буфера (2% SDS, 0,1 мМ TrisHCl EDTA та 0,5 М NaCl, рН 8,1). Отриману масу термостатували у термостаті твердотілому при +65  $^{\circ}$ С на протязі 30 хв, періодично перемішуючи пробірки вручну для більшого виходу нуклеїнових кислот. Після цього пробірки центрифугували 10 хв. При швидкості 12000 обертів. Після отримання супернатанту (400  $\mu$ л) рідину переносили у чисті пробірки аналогічного об'єму. У кожену пробірку додавали 5 мікролітрів розчину протеїнази К з метою видалення гістонових та мембранних білків. З метою висадження детергенту у пробірки додавали 250  $\mu$ л розчину хлориду натрію (6М). Суміш ретельно перемішували і висаджували шляхом центрифугування на протязі 15 хв. на швидкості 12000 обертів. По завершенні відбирали 500  $\mu$ л чистої рідини і переносили до чистих пробірок. Осадження нуклеїнової кислоти здійснювали додаванням еквівалентного об'єму холодного етилового спирту (96%, - 20  $^{\circ}$ С) з наступним центрифугуванням зі швидкістю 12000 обертів на протязі 15 хв. Очищували ДНК додаванням 300  $\mu$ л холодного етанолу (70%, -20 $^{\circ}$ С) з подальшим дворазовим повторенням процедури і центрифугуванням на протязі 5хв. при тій же швидкості. Видаливши спирт, висушували осад за температури +65 $^{\circ}$ С протягом 1 хв. Осад розчиняли у 100  $\mu$ л TrisHCl EDTA, рН 8,0.

Полімеразну ланцюгову реакцію (тут і далі – ПЛР) ДНК досліджуваного матеріалу проводили з використанням термоциклера Bio-Rad T100 (США). Склад реакційної суміші: ArtTaq DNA polymerase, 10-кратний буфер, 50 мМ MgCl<sub>2</sub> – 10  $\mu$ л, розчин ДНК – 5  $\mu$ л, вода деіонізована для ПЛР – 4  $\mu$ л, розчин праймера – 1  $\mu$ л.

Праймери, що використовувалися у роботі, належать до RAPD (Random Amplificated Polymorphic DNA) і є декамерними (складаються з 10 основ). Вони мають таку послідовність: OPA-03 AGTCAGCCAC та OPA-13 CAGCACCCAC.

Ці праймери ідентифікуються з генами експресії якісного складу борошна у пшениць.

Праймери, що використовувалися по ячменю, компліментарні з генами, що відповідають за формування білку та ізоферментів в ендоспермі і мають послідовність UBC-402 CCCGCCGTTG UBC-475 CCAGCGTATT.

Ампліфікатор налаштовували за двома окремими протоколами. Ампліфікація ДНК пшениці становила 40 циклів з початковою денатурацією при температурі 94 °С протягом 3 хв., повторна денатурація складала 30 сек. при температурі 94 °С, відпал праймерів – 1 хв при температурі 38 °С, елонгація 2 хв за температури 72 °С, інкубація 10 хв., температура 72 °С.

Клонування ДНК сортів ячменю зайняло 35 циклів. Первинна денатурація тривала 5 хв. при температурі 94 °С, повторна денатурація займала 1 хв. при температурі 94 °С, відпал праймерів тривав 1 хв при температурі 37 °С, елонгація 2 хв за температури 72 °С, інкубація 7 хв., температура 72 °С.

Розділення продуктів ампліфікації проводили методом горизонтального електрофорезу у 2% агарозному гелі в присутності бромистого етидію. В якості електродного буфера використовували 1,0% ТБЕ-буфер. Візуалізацію продуктів ампліфікації проводили за допомогою транслюмінатора Bio-Rad UV Uviev Mini з подальшим фотографуванням гелю. В якості маркера молекулярної ваги використовували pUC19 DNA / Kzo9I виробництва Eurofins Genomics. Маркер являє собою плазмиду, гідролізовану ферментом з утворенням 15 фрагментів та включає від 955 до 8 пар нуклеотидів.

Генетичну відстань між сортами визначали за допомогою програми "STATISTIKA 8.0".

## РОЗДІЛ 3

### МОЛЕКУЛЯРНА ДІАГНОСТИКА СОРТІВ ЗЛАКОВИХ КУЛЬТУР З ВИКОРИСТАННЯМ RAPD-ПРАЙМЕРІВ

#### 3.1. Селекційні перспективи на якісний склад борошна зернових культур та виявлення цільових генів

Якісний результат полімеразної ланцюгової реакції неможливий без якісного препарату ДНК – він має бути максимально очищеним та цілісним. Домішки можуть виступати інгібіторами ПЛР, тобто уповільнювати реакцію до критичної швидкості. Необережне поводження з препаратом або неправильне зберігання призведе до його деградації, що також унеможливить реакцію.

Оцінка стану препаратів ДНК сортів пшениці озимої та ячменю, здійснена за допомогою гель-електрофорезу засвідчує високу якість препаратів нуклеїнових кислот, що підтверджують тонкі бенди (смужки) (рис. 3.1.).

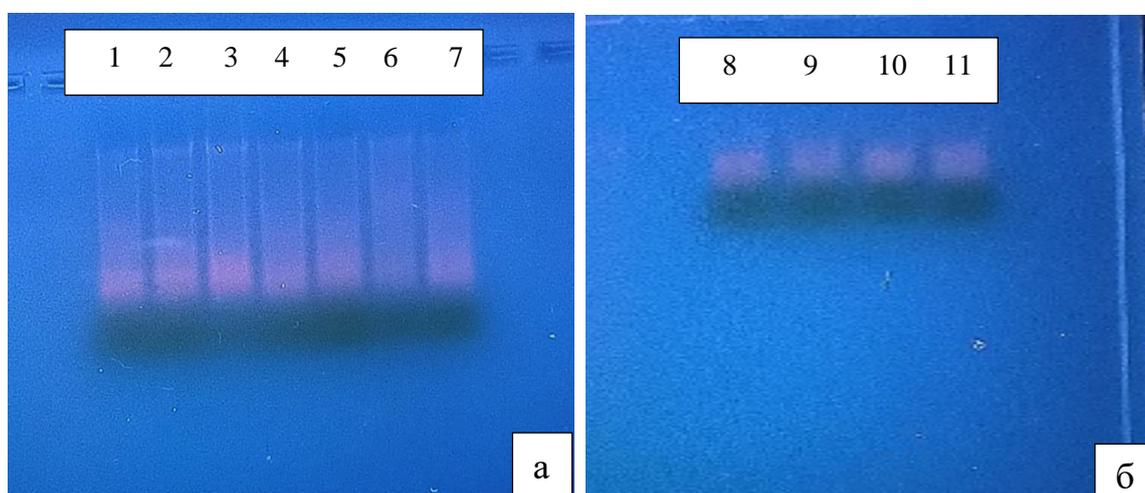


Рис. 3.1. Стан препаратів ДНК пшениці озимої (а) та ячменю (б): 1 – Колонія, 2 – Еміль, 3 – Юлія, 4 – Кубус, 5 – Депот, 6 – Етана, 7 – Петрос, 8 – Акордіне, 9 – Командор, 10 – Богун, 11 – Аграрій.

За результатами ампліфікації ДНК сортів пшениці озимої та ячменю було отримано ряд продуктів реакції. Кожен фрагмент нами було визначено як локус зі своєю нуклеотидною послідовністю. Варто нагадати, що застосовані

олігонуклеотидні праймери комплементарно зчеплені з генами, що у пшениці визначають якісний склад борошна, а у ячменю — білків та ізоферментів.

Ідентифікація цих генів у зазначених культурах має вирішальне значення для їх селекції. Такий підхід дозволяє проводити цілеспрямований добір за конкретними ознаками, які мають важливе господарське значення. Наприклад, визначення генів, відповідальних за утворення високоякісного білкового комплексу у пшениці, сприяє створенню сортів із покращеними хлібопекарськими властивостями. У випадку з ячменем, ідентифікація генів, що відповідають за синтез специфічних ізоферментів, відкриває нові можливості для підвищення якості зерна, зокрема для пивоварної промисловості.

Застосування сучасних молекулярно-генетичних методів дозволяє значно прискорити процес селекції. Використання маркерів, що базуються на ДНК, дозволяє ефективніше оцінювати генетичну різноманітність, проводити ідентифікацію потрібних генів та відслідковувати їхню передачу у процесі схрещувань. Такий підхід є основою для створення перспективного вихідного матеріалу з наперед визначеними властивостями, що відповідають потребам агровиробників та споживачів.

Таким чином, результати проведеної роботи є ключовими для забезпечення подальшого прогресу у селекції пшениці та ячменю. Вони не лише підвищують точність і ефективність добору, а й сприяють створенню інноваційних сортів, які відповідають вимогам сучасного аграрного ринку та кліматичних змін.

Проводячи діагностику наявності того чи іншого гена (т.зв. "цільового") чи навіть сукупності генів за посередництвом специфічних фрагментів ДНК-маркерів, котрі поєднані з потрібним геном за правилом компліментарності, можна здійснювати добори напряму, обходячи таким чином тривалу перевірку великої кількості рослинних зразків у польових умовах. Ця технологія дістала назву маркерної селекції або MAS (marker-assisted selection).

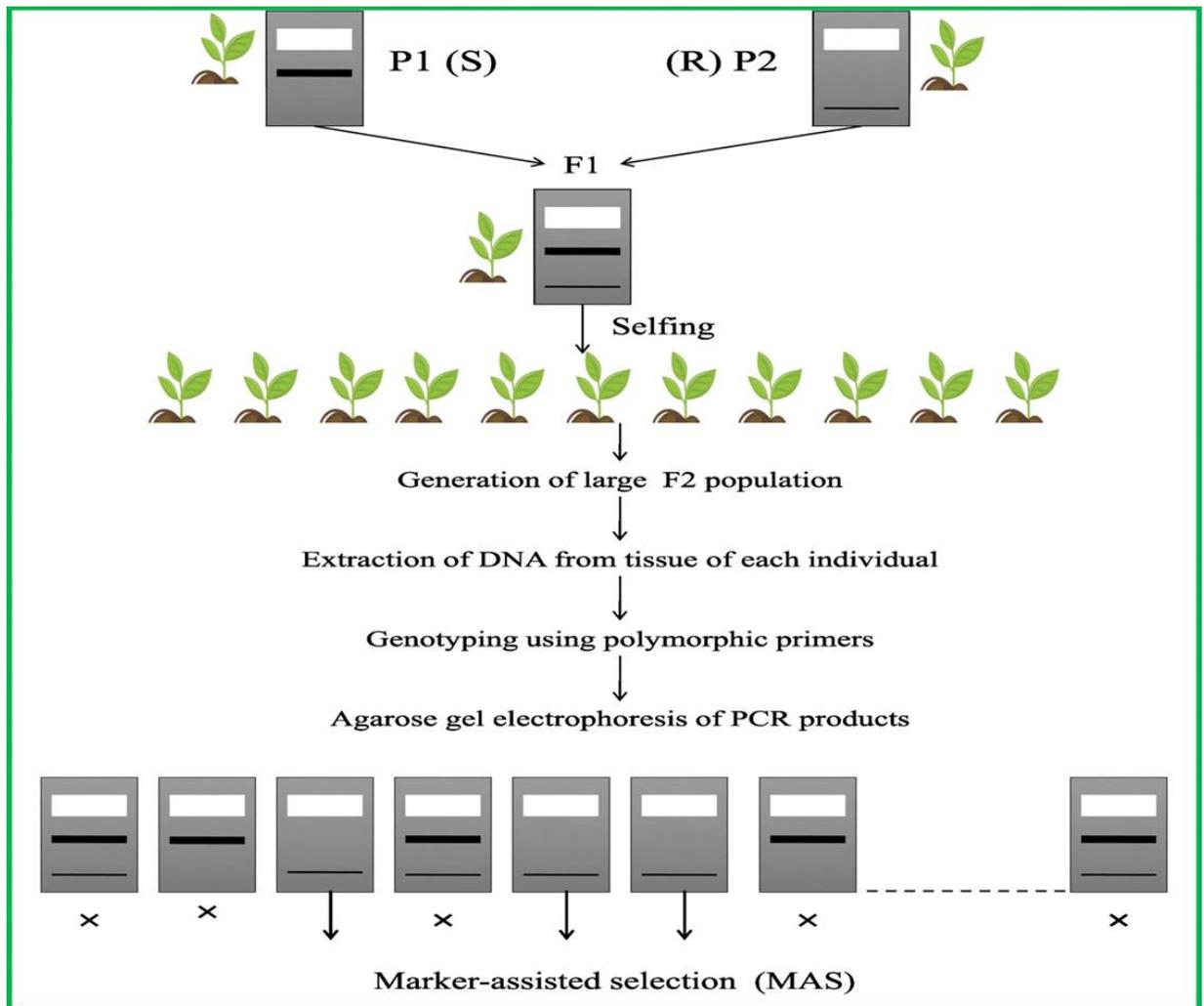


Рис 3.2. Схема маркерної селекції.

Пшениця озима є головною продовольчою культурою в Україні, тому величезну увагу селекціонерів привертає не тільки напрямом на збільшення продуктивності, але й поліпшення його якості.

Багато показників впливають на якість насіння і кожен має свій функціонал в основі даної ознаки. Якість зерна на пряму впливає на хлібопекарські та борошномельні властивості борошна і виробленої продукції, що покликана задовольняти потреби людини у харчуванні.

Однією зі складових якості зерна є його натура – це маса зерна в 1 літрі, і від неї залежить вихід борошна. Зниження натури призводить і до зниження виходу борошна.

Неабиякою складовою борошномельних властивостей зерна є маса 1000. Ця ознака демонструє співвідношення щільності і розміру зерна. Чим вища маса

1000, тим більше співвідношення ендосперму та інших компонентів зернівки, а отже, більше поживних речовин.

Консистенцію ендосперму визначає склоподібність зернівок. Загалом у пшениць виявляють склоподібне, напівсклоподібне і борошнисте зерно. Борошномельні та хлібопекарські властивості зерна у певній мірі визначаються склоподібністю. Варто зауважити, що не кожна пшениця зі склоподібним зерном володіє високими технологічними якостями; більш консистенцію зерна можна оцінити за твердозерністю, котра належить до сортових ознак.

Якість зерна залежить і від кольору зернівок. Розрізняють червонозерні, білозерні та янтарні пшениці в залежності від кольору оболонок. Максимальною придатністю для виробництва високоякісних продуктів характеризуються сорти пшениці з твердою зернівкою та червоним забарвленням. Чим вища інтенсивність забарвлення у пшениць, тим більша твердозерність і вміст білку.

Сорти пшениць білого забарвлення є сировиною для виготовлення кондитерських виробів, а янтарні пшениці використовуються в основному для виробництва макаронів, оскільки відзначаються максимальним вмістом білка та сильною твердозерністю.

Найбільш важливими сполуками у зерні пшениці є білки, від вмісту яких залежать харчова цінність та хлібопекарські властивості. Важливу роль відіграє і фізіологічна повноцінність протеїнових сполук та їх амінокислотний склад.

Вміст білку, як було сказано вище, є надзвичайно цінною ознакою для пшениць загалом, але їх харчові, технологічні та товарні якості визначає інша сполука – клейковина. Вона складається з гліадину та глютену і належить до білкових сполук.

На вміст клейковини в зерні впливають різноманітні фактори, зокрема генотип сорту, технологія вирощування, ґрунтово-кліматичні умови росту і розвитку рослин. Технологічні властивості борошна значною мірою залежать від вмісту та якості клейковини.

За результатами полімеразної ланцюгової реакції ДНК чотирьох сортів ячменю у присутності декамерних праймерів RAPD, що пов'язані з вмістом білку

та ізоферментів у зерні ячменю нами виявлено присутність відповідного фрагмента у всіх без виключення сортах.

У селекційній практиці ячменю встановилися чіткі напрями стосовно вмісту білка – селекція на його підвищення (кормові цілі), або зниження (харчові цілі та пивоваріння).

У першому випадку перевага надається високобілковим сортам. Кормовий ячмінь має відповідати двом вимогам: урожайність та високий вміст білка у зерні. Важливою ознакою також є амінокислотний склад білків, особливо вміст незамінних амінокислот. Все це робить кормову цінність ячменю набагато вищою у порівнянні з іншими злаковими культурами.

Надзвичайно важливою особливістю зерна ячменю є наявність у його клітинах ізоферментів. Біологічна роль цих сполук полягає у можливості забезпечувати стабільне протікання певних фізіологічних процесів за суттєво відмінних умов. Вони синтезуються на різних ділянках ДНК, але виконують однакову функцію.

Таким чином, нами зафіксовано наявність локусів у ДНК досліджуваних сортів, що так чи інакше пов'язані з синтезом білкових сполук. Більш детально розглянемо результати полімеразної ланцюгової реакції.

### **3.2. Молекулярно-генетична ідентифікація сортів пшениці озимої та ячменю**

За результатами полімеразної ланцюгової реакції ДНК сортів пшениці озимої та ячменю встановлено, що переважна більшість продуктів ампліфікації знаходиться у межах 258 пар нуклеотидів (н.п.). Виключенням є лише сорт Депот, локус якого знаходиться в межах фрагменту 141 н.п. Таким чином, праймер ОРА03 виявляється спільним для всіх сортів пшениці озимої.

Схожий результат виявлено при використанні праймера ОРА13, тільки в межах фрагменту довжиною 141 н.п. знаходяться сорти Юлія та Кубус.

Електрофореграма засвідчує спорідненість всіх досліджуваних сортів за вказаним праймером.

Таким чином, розподіл продуктів ампліфікації ДНК сортів пшениці озимої за двома праймерами виявляється достатньо рівномірним. Всього отримано 14 ампліконів, при цьому поліморфних фрагментів не виявлено.

Результати ПЛР сортів ячменю показали дещо інший розподіл ампліконів за довжиною фрагментів. Було використано праймер UBC-402 з послідовністю CCCGCCGTTG. Половина ампліконів, а це сорти Акордіне та Аграрій знаходяться у межах 341 н.п., решта на рівні 258 н.п.

По праймеру UBC-475 з послідовністю CCAGCGTATT довжина фрагментів трохи інша. Сорти Акордіне і Богун знаходяться у межах 258 н.п., а локуси сортів Аграрій та Командор локалізовані у більших фрагментах – 341 н.п.

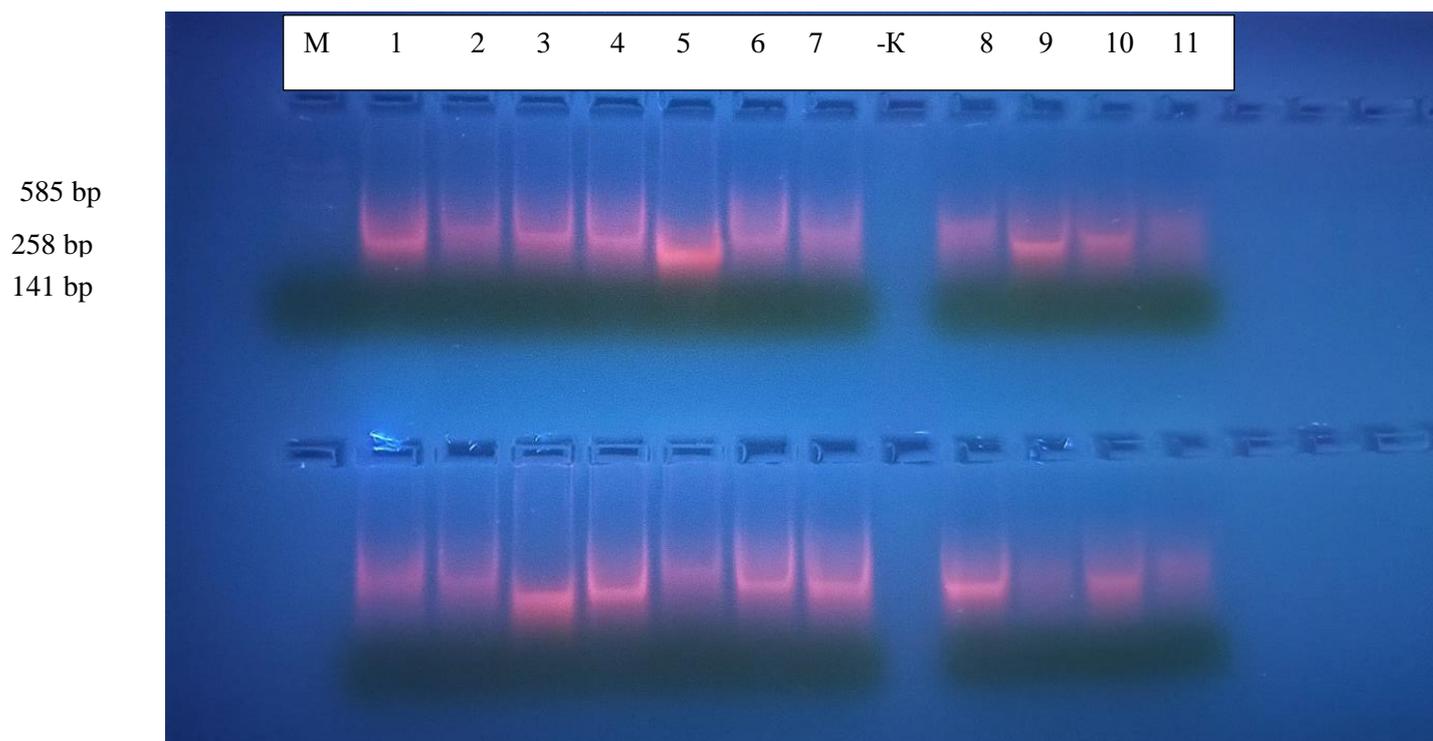


Рис 3.3. Результати ампліфікації ДНК сортів пшениці озимої та ячменю. 1 – Колонія, 2 – Еміль, 3 – Юлія, 4 – Кубус, 5 – Депот, 6 – Етана, 7 – Петрос, 8 – Акордіне, 9 – Командор, 10 – Богун, 11 – Аграрій, М – маркер молекулярної ваги, -К – негативний контроль.

### 3.3. Визначення генетичної відстані між сортами досліджуваних культур

За результатами полімеразної ланцюгової реакції нами встановлено спільність сортів пшениці озимої за використаними праймерами. Такий самий результат отримано і в дослідженнях сортів ячменю.

Для визначення генетичної відстані між сортами досліджуваних культур ми визначили головним фактором локалізацію ампліконів у фрагментах відповідної довжини. Фрагмент 258 н.п. визначено як 1, а 141 н.п. як 2. У ячменю фрагменти 258 н.п. також визначено як 1, фрагменти 341 н.п. як 2.

За результатами кластерного аналізу сортів пшениці озимої встановлено, що досліджувані зразки не відзначаються значною генетичною відстанню. Згідно обох маркерів, далі від усіх перебуває сорт Депот, ближче до нього розташовані Юлія та Кубус але відстань незначна, хоч вони і утворюють свій кластер (рис. 3.4.).

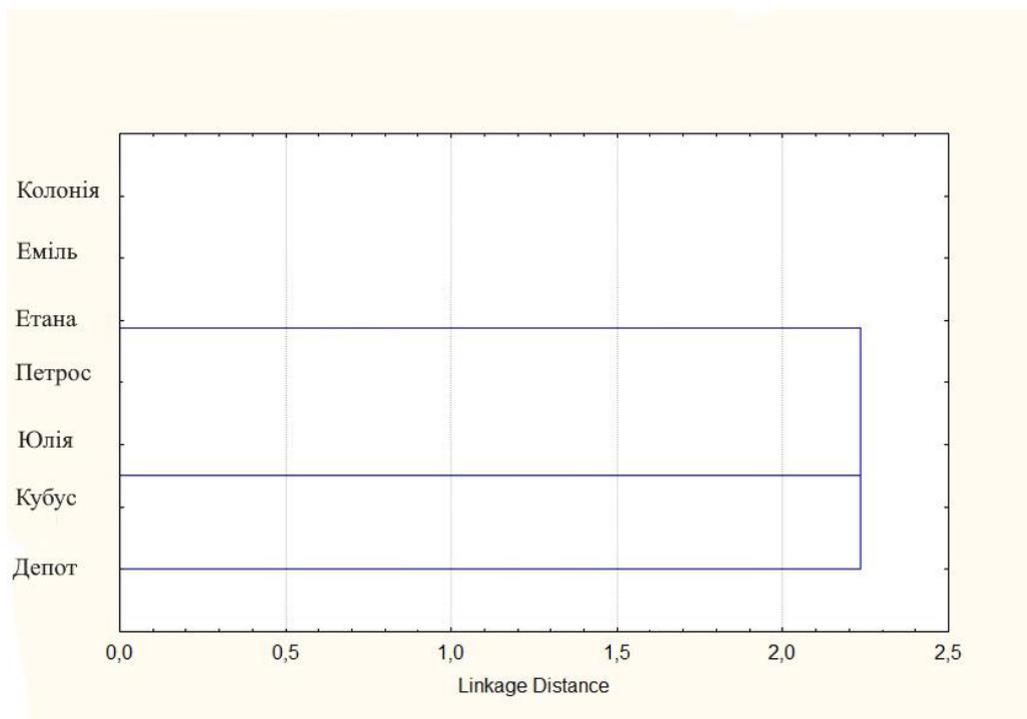


Рис. 3.4. Результати кластерного аналізу сортів пшениці озимої за ступенем спорідненості.

Кластерний аналіз сортів ячменю не демонструє їх тісної спорідненості; їхня генетична відстань рівномірна (рис. 3.5).

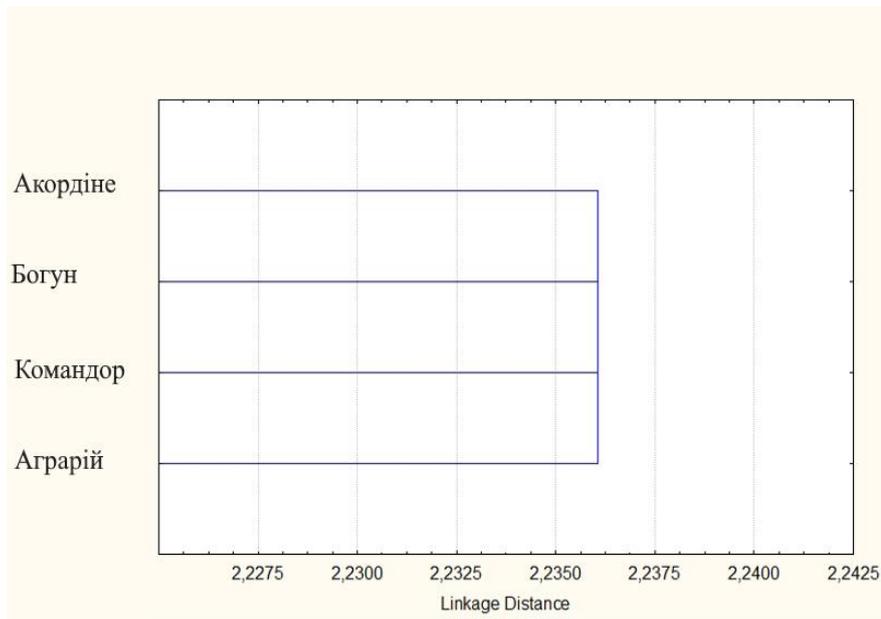


Рис. 3.5. Результати кластерного аналізу сортів ячменю за ступенем спорідненості.

Таким чином, за результатами визначення генетичної відстані між сортами пшениці озимої не виявлено якихось значних відмінностей. Такі ж результати отримано і в сортів ячменю.

## ВИСНОВКИ

1. Результати молекулярно-генетичної ідентифікації сортів пшениці озимої та ячменю з використанням олігонуклеотидних праймерів виявили по одному локусу у фрагментах середньої довжини. Поліморфних фрагментів не виявлено, що може свідчити також про специфічність праймерів, однак загальна результативність ПЛР свідчить про ефективність використаних праймерів.

2. Довжина ампліфікованих фрагментів порівняно з розмірами фіксованої довжини у маркера молекулярної маси складає переважно 258 пар нуклеотидів, але є фрагменти довжиною 341 н.п. та 141 н.п.

3. Використані RAPD-праймери у пшениці та ячменю пов'язані комплементарно з генами, що кодують синтез білкових сполук. У пшениці озимої ці сполуки визначають якісний склад борошна, у ячменю відповідно вироблення ізоферментів. Виявлення цих генів має вирішальне значення для селекції досліджуваних культур.

4. Виявлені у ході дослідження гени можуть бути використані як цільові. Добір напряму за цільовим геном є запорукою ефективності селекційної роботи, а також дозволяє уникнути тривалої перевірки рослинного матеріалу у польових умовах, а значить, дозволяє скоротити витрати часу та праці на створення нового селекційного матеріалу.

5. Генетична відстань між сортами як пшениці озимої, так і ячменю, виявилася незначною за кожною парою праймерів, що свідчить про тісну спорідненість сортів.

## ПРОПОЗИЦІЇ

Для успішної селекції як пшениці озимої, так і ячменю на якісний склад борошна та ізоферменти варто використовувати метод полімеразної ланцюгової реакції з використанням олігонуклеотидних RAPD-праймерів ОРА-03 AGTCAGCCAC та ОРА-13 CAGCACCCAC (для пшениці озимої), а також UBC-402 CCCGCCGTTG UBC-475 CCAGCGTATT (для ячменю).

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Chebotar S.V., Rцder M., Вцrner A., Sivolap Yu.M. Characterisation of Ukrainian bread wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm by using microsatellite markers // Бюлетень державного Нїкїтського ботанїчного саду. – Ялта, 2002. – 85. – С. 8–11.
2. Солодушко М. М. Тривалїсть осїнньої вегетацїї та врожайнїсть пшеницї озимої. Бюл. Ін-ту зерн. госп-ва УААН. 2011. № 40. С. 32–35.
3. Електронний ресурс: Промова Прем'єр-мїнїстра України Денїса Шмигала на засїданнї Уряду, URL:<https://www.kmu.gov.ua/news/promova-premier-ministra-ukrainy-denysa-shmyhalia-na-zasidanni-uriadu-20092024>
4. Електронний ресурс: Мїнїстерство аграрної полїтики. URL:<https://minagro.gov.ua>
5. Науковї основи агропромисловського виробництва в зонї Степу України / редкол.: М. В. Зубець (голова) та їн. Київ: Аграр. наука, 2010. 986 с.
6. Сиволап Ю.М., Волкодав В.В, Бальвїнська М.С., Кожухова Н.Е. та їн. Ідентифїкацїя і реєстрацїя генотипів пшеницї, ячменю, кукурудзи, соняшнику за допомогою аналізу мїкросателїтних локусів (Методичнї рекомендацїї). – Одеса, 2004. – 14 с
7. Куц О.О., Чеботар С.В., Сиволап Ю.М., Тоцький В.М. Молекулярно-генетичний полїморфїзм *Triticum aestivum* L., визначений шляхом inter-SSR ПЛР // Вїсник Одеського державного унїверситету, Біологїя. – 2000. – 5, № 1. – С. 97–102
8. Sivolap Yu., Chebotar S. Identification and registration of Ukrainian common wheat varieties on the bases of STMS-analysis // Documents on the VII Session of the working Group on Biochemical and Molecular Techniques and DNA-Profilng in Particular (BMT) of UPOV. Hanover, Germany. 21–23.11.2001. Document BMT/7/19 Prov. Annex III. – P. 6–10.

9. Zhang W., Gianibelli M.C., Ma W., Rampling L., Gale K.R. Identification of SNPs and development of allele-specific PCR markers for  $\gamma$ -gliadin alleles in *Triticum aestivum* // *Theor. Appl. Genet.* – 2003. – 107. – P. 130–138.
10. Sasaki T. Genome mapping, molecular marker and marker assisted selection in crop plants // *Molecular Breeding.* – 1977. – V. 3. – P. 87–103.
11. McCouch S. R., Chen X., Panaud O., Temnykh S., Xu Y. et al. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding // *Plant Mol. Biol.* – 1997. – V. 35. –P. 89–99.
12. Powell W., Morgante M., Andre C., Hamfey M. A comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite ) markers for germplasm analysis // *Mol. Breed.* – 1996. – V. 2. – P. 225–238.
13. Beckmann J.S., Soller M. Restriction fragment length polymorphisms in genetic improvement: methodologies, mapping and costs // *Theor. Appl. Genet.* 1983. V. 67. P. 35-43.
14. Bahattin T (2003). Inter-simple sequence repeat (ISSR) and RAPD variation among wild barley (*Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum*) populations from west Turkey. *Genet. Res. Crop Evol.* 50: 611-614.
15. Sosinski B, Gannavarapu M, Hager LD, Beck LE, King GJ, Ryder CD (2000). Characterization of microsatellite markers in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch). *Thor.Appl.Genet.* 101: 421-428
16. Yang XG, Zhang KC, Qin L, Wang YX (2001). RAPD analysis of germplasm resources on peach(in Chinese with an English abstract). *J. Fruit Sci.* 18: 276-279.
17. Tilquin, P., Barrow, P.A., Marly, J., Pitel, F., Plisson-Petit, F., Velge, P., Vignal, A., Baret, P.V., Bumstead, N. & Beaumont, C. 2005. A genome scan for quantitative trait loci affecting the *Salmonella* carrier-state in the chicken. *Genetics Selection Evolution*, 37: 539–61.
18. Сиволап Ю.М., Волкодав В.В, Бальвинська М.С., Кожухова Н.Е. та ін. Ідентифікація і реєстрація генотипів пшениці, ячменю, кукуру дзи,

соняшнику за допомогою аналізу мікросателітних локусів (Методичні рекомендації). – Одеса, 2004. – 14 с.

19. Diwan N., Cregan P. B. Automated sizing of fluorescent-labeled simple sequence repeat (SSR) markers to assay genetic variation in soybean // *Theor. Appl. Genet.* – 1997. – V. 95. – P. 723–733.

20. McCouch S. R., Chen X., Panaud O., Temnykh S., Xu Y. et al. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding // *Plant Mol. Biol.* – 1997. – V. 35. – P. 89–99.

21. Powell W., Morgante M., Andre C., Hamfey M. A comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis // *Mol. Breed.* – 1996. – V. 2. – P. 225–238.

22. Lagercrantz U., Ellegeren H., Anderson L. The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates // *Nucleic Acids Res.* 1993. Vol. 21. P. 1111–1115.

23. Huseyin Uysal, Yong-BiFu, Orhan Kurt, Peterson G.W., Diederichsen A, Kutters P. Genetic diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) and its wild progenitor pale flax (*Linum bienne* Mill.) as revealed by ISSR markers // *Genet. Resour. Crop Evol.* 2010. Vol. 57. P. 1109–1119.

24. Чеботар Г.О., Чеботар С.В., Моцний І.І., Сиволап Ю.М. Уточнення ступеня зчеплення генів Rht8 та Ppd-D1 на 2D хромосомі озимої м'якої пшениці // *Цитология и генетика.* – 2013. – 47, № 2. – С. 12–17.

25. Петрова І.В., Чеботар С.В., Рибалка О.І., Хохлов О.М., Сиволап Ю.М. Спосіб діагностики та контролю Wx-генів при створенні сортів пшениці з низьким або нульовим вмістом амілози. Патент України на корисну модель № 37137 від 25.11.2008, Бюл. № 22

26. Korpelainen H., de Britto J., Doublet J., Pravin S. Four tropical, closely related fern species belonging to the genus *Adiantum* L. are genetically distinct as revealed by ISSR fingerprinting // *Genetica.* 2005. Vol. 125. № 2-3. P. 283–291. 17. Borchert T., Hohe A. Identification of molecular markers for the flower type in the ornamental crop *Calluna vulgaris* // *Euphytica.* 2009. Vol. 170. № 1. P. 203–213

## **ДОДАТКИ**

---

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
СУМСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**МАТЕРІАЛИ**  
**ВСЕУКРАЇНСЬКОЇ НАУКОВОЇ**  
**КОНФЕРЕНЦІЇ СТУДЕНТІВ**  
**ТА АСПІРАНТІВ, ПРИСВЯЧЕНОЇ**  
**МІЖНАРОДНОМУ ДНЮ СТУДЕНТА**

(18-22 листопада 2024 р., м. Суми)

Олійник О. П. СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ВИРОЩУВАННЯ САДИВНОГО МАТЕРІАЛУ <i>QUERCUS ROBUR L.</i> .....	106
Остапенко К. С. ВИРОЩУВАННЯ <i>LAGURUS OVATUS L.</i> У ЗАКРИТОМУ ҐРУНТІ З ПОДАЛЬШОЮ ВИСАДКОЮ У ВІДКРИТИЙ: ВПЛИВ ПРИРОДНО-КЛІМАТИЧНИХ УМОВ.....	107
Селезень С. ЗАСТОСУВАННЯ ЗЕЛЕНОГО ЖИВЦЮВАННЯ, ЯК ЗАХІД ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ДІЯЛЬНОСТІ ЛІСОГОСПОДАРСЬКОГО ПІДПРИЄМСТВА.....	108
Скуба Я. С., Жук А. Р. ОСОБЛИВОСТІ ДОГЛЯДУ ЗА СПОРТИВНИМИ ҐАЗОНАМИ В УМОВАХ УРБАНІЗОВАНОГО СЕРЕДОВИЩА.....	109
Сліпушко О. О. ПОШИРЕННЯ ТА ОСОБЛИВОСТІ ВИРОЩУВАННЯ <i>PICEA PUNGENS GLAUCA</i> НА ТЕРИТОРІЇ УКРАЇНИ.....	110
Степчин В. С. ЛІСОКУЛЬТУРНА ДІЯЛЬНІСТЬ У ФІЛІЇ "ТРОСТЯНЕЦЬКЕ ЛІСОВЕ ГОСПОДАРСТВО" ДП «ЛІСИ УКРАЇНИ».....	111
Терещенко Р. С., Ігнатенко М. В. ВИРОЩУВАННЯ ПРОСА ПРУТОВИДНОГО ТА МІСКАНТУСУ ГІГАНТСЬКОГО В УМОВАХ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ.....	112
Ткаченко В. О. ПРАКТИЧНІ ПІДХОДИ ЩОДО ОХОРОНИ ЛІСІВ ВІД ПОЖЕЖ У ФІЛІЇ «СУМСЬКЕ ЛІСОВЕ ГОСПОДАРСТВО» ДП «ЛІСИ УКРАЇНИ».....	113
Шапаренко В. С. РОЗВИТОК ТА ВПРОВАДЖЕННЯ ІННОВАЦІЙНИХ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ТА МОНІТОРИНГУ ЗА ШКІДНИКАМИ ТА ХВОРОБАМИ У ФІЛІЇ «СУМСЬКЕ ЛІСОВЕ ГОСПОДАРСТВО» ДП «ЛІСИ УКРАЇНИ».....	114
Шаповал А. С., Вільбой А. Є. МИСЛИВСЬКЕ ЗНАЧЕННЯ, ВИДОВИЙ СКЛАД ТА ЧИСЕЛЬНІСТЬ ХИЖИХ ССАВЦІВ ( <i>CARNIVORA</i> ).....	115
Шкіль О. О., Мельник С. М. РОЛЬ СІРКИ В ЖИВЛЕННІ КУКУРУДЗИ.....	116
Алексеев А. О. АНАЛІЗ ВПЛИВУ ГУСТОТИ ПОСІВУ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ КУКУРУДЗИ В ПІВНІЧНО-СХІДНОМУ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ.....	117
Бесараб М. І. ВПЛИВ ВИБОРУ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОЩУВАННЯ НА ПОКАЗНИКИ АГРОЦЕНОЗУ ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ.....	118
Близнак В. І. РОЛЬ МІКРООРГАНІЗМІВ У ФОРМУВАННІ ВРОЖАЙНОСТІ КУКУРУДЗИ ВИРОЩУВАНОЇ ЗА СИСТЕМОЮ NO-TILL.....	119
Бондарець Р. С. АГРОТЕХНІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ВИРОЩУВАННЯ СОНЯШНИКУ В УМОВАХ ПІВНІЧНО-СХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ.....	120
Булка О. А. ВПЛИВ ГІБРИДУ У ФОРМУВАННІ ПРОДУКТИВНОСТІ КУКУРУДЗИ.....	121
Василенко С. В. ОСНОВНІ ПОКАЗНИКИ ТА ПРОБЛЕМИ ВХОДЖЕННЯ ОЗИМОГО РІПАКУ В ПЕРІОД ПЕРЕЗИМВЛІ, ВОСЕНИ.....	122
Випряжкін Д. А. ВПЛИВ ДОБРІВ НА ВРОЖАЙНІСТЬ ЯРОГО ЯЧМЕНЮ В УМОВАХ ПІВНІЧНО-СХІДНОГО ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ.....	123
Волохова О. І. ЕФЕКТИВНІСТЬ СУМІСНОГО ЗАСТОСУВАННЯ РЕГУЛЯТОРА РОСТУ І МІКРОДОБРІВ НА ПОСІВІ ГРЕЧКИ.....	124
Звягін В. С. ВПЛИВ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОЩУВАННЯ НА ЯКІСТЬ ЗЕРНА ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ.....	125
Калітаев С. П. ВПЛИВ МІКРОБНИХ ДОБРІВ НА ФОРМУВАННЯ УРОЖАЙНОСТІ СОЇ В АГРОКЛІМАТИЧНИХ УМОВАХ СУМСЬКОЇ ОБЛАСТІ.....	126
Криворотенко М. С. ПЕРСПЕКТИВИ БІОЛОГІЗАЦІЇ У ВИРОЩУВАННІ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ.....	127
Куїмбама Анаклето Грасіано Каломбе ОСОБЛИВОСТІ ВПРОВАДЖЕННЯ ЗРОШУВАННЯ В АНГОЛІ.....	128
Наталіч Я. С. RAPD-АНАЛІЗ У СЕЛЕКЦІЙНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ.....	129
Наумов О. В. РЕАКЦІЯ ГІБРИДІВ КУКУРУДЗИ НА ЗМІНУ ГУСТОТИ ПОСІВУ В УМОВАХ ПІВНІЧНОГО ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ.....	130
Неймет В. В. ВПЛИВ ТЕРМІНІВ ПОСАДКИ РАННІХ СОРТІВ КАРТОПЛІ НА УРОЖАЙНІСТЬ В УМОВАХ ЗАКАРПАТСЬКОЇ НИЗОВИНИ.....	131
Ничик В. О. ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК МІЖ ЕЛЕМЕНТАМИ ТОЧНОГО ЗЕМЛЕРОБСТВА ТА УРОЖАЙНІСТЮ КУКУРУДЗЯНИХ ГІБРИДІВ В УМОВАХ ТОВ «МХП УРОЖАЙНА КРАЇНА».....	132
Прокопенко Р. А., Радько А. М. ПЕРСПЕКТИВИ ВИРОЩУВАННЯ ПШЕНИЦІ ТВЕРДОЇ ЯРОЇ НА СУМЩИНІ.....	133
Рибка О. В. ЗАЛЕЖНІСТЬ ВРОЖАЙНОСТІ СОЇ ВІД ГУСТОТИ ПОСІВІВ І ШИРИНИ МІЖРЯДЬ У ПІВНІЧНО-СХІДНІЙ ЧАСТИНІ ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ.....	134
Сивак Я. П. ВИРОЩУВАННЯ ТЮТЮНУ В УМОВАХ ПІВНІЧНО-СХІДНОГО ЛІСОСТЕПУ УКРАЇНИ.....	135
Цеділкін А. В. ЕФЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ РЕГУЛЯТОРІВ РОСТУ ТА МІКОРОДОБРІВ ПА НА ПОСІВАХ РІЗНИХ СОРТІВ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ.....	136
Бик Н. А. ПРОБЛЕМИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ СТРАХУВАННЯ В ТУРИЗМІ.....	137
Букачов В. М. ТУРИСТИЧНО-РЕКРЕАЦІЙНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ОХТИРСЬКОГО РАЙОНУ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ЙОГО ВИКОРИСТАННЯ.....	138
Віленський В. О. РОЗВИТОК ЕТНІЧНОГО ТУРИЗМУ В УКРАЇНСЬКО-ПОЛЬСЬКОМУ ПРИКОРДОННІ.....	139
Ващенко В. Р. ОБ'ЄКТИ НЕМАТЕРІАЛЬНОЇ КУЛЬТУРНОЇ СПАДЩИНИ ЯК СКЛАДОВА ТУРИСТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ УКРАЇНИ.....	140

## RAPD-АНАЛІЗ У СЕЛЕКЦІЙНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ ПШЕНИЦІ ОЗИМОЇ

Наталич Я. С., студ. 2м курсу ФАТП  
Науковий керівник: доц. І. В. Верещакін  
Сумський НАУ

Пшениця (*Triticum aestivum* L.) використовується як основний продукт харчування, будучи найважливішою зерновою культурою в усьому світі. Вона є основою харчування людини і має глобальне економічне значення. Загальна посівна площа пшениці становить понад 200 млн га, а загальне виробництво пшениці становить близько 733 млн т на рік. Високу поживну цінність має пшениця, яка складається з 58,2% крохмалю, має достатню кількість цукру та жиру. Поживність пшениці перевершує за вмістом білка 11,2%, пентозанів 6,8%, золи 1,7% і 70% випадків і має вищий відсоток вуглеводів, ніж інші культури [1].

Географічно південно-західна Азія, як її центр походження, і, згідно з найдавнішими історичними записами, пшениця була важливою культивованою культурою в цьому регіоні. Дикі види *Triticum* зустрічаються в Іраку, Сирії, Лівані, східній Туреччині та північному Ізраїлі. У Єгипті та Греції пшеницю культивували в доісторичні часи, центром різноманітності гексаплоїдної пшениці є Гіндукуш.

*Triticum aestivum*, звичайна пшениця, містить 3 різні, але генетично пов'язані геноми (A, B і D) із загальним геномним розміром  $1,7 \times 10^{10}$  пар основ, що приблизно в 500 разів більше, ніж у рису, що ілюструє складну природу геному пшениці. Пшениця була харчовою культурою для людства з самого початку землеробства. Карбонізовані зерна, датовані принаймні 8750 роком до н. е. були знайдені в Іраку, а багато інших знахідок у країнах Східного Середземномор'я майже такі ж давні. Близький Схід, ймовірно, є територією походження, і пшениця, очевидно, поширилася по Європі не пізніше кам'яного віку [2].

Знання генетичного різноманіття серед адаптованих сортів або елітних племінних матеріалів має значний вплив на поліпшення сільськогосподарських культур. Його можна отримати з аналізу родоходу, морфологічних ознак або використання молекулярних маркерів.

Молекулярні маркери забезпечують найкращу оцінку генетичного різноманіття, оскільки вони не залежать від результатів впливу факторів зовнішнього середовища. Останнім часом на протязі кількох років використовувався ряд молекулярних методів для оцінки генетичного різноманіття сортів пшениці. Ці методи відрізнялися принципом, застосуванням, типом, ступенем поліморфізму, затратами часу. Аналізи на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) повинні відповідати як технічним, так і генетичним вимогам для характеристики генетичних ресурсів рослин і тварин [1, 2].

Аналіз генетичного різноманіття за допомогою молекулярних засобів відіграв важливу роль у створенні геномної структури, визначенні важливих генів для певних ознак і, нарешті, зберіг генетичний матеріал для майбутнього використання у селекції рослин. Оцінка генетичного різноманіття диплоїдної, тетраплоїдної та гексаплоїдної пшениці ефективно вимірюється методом RAPD. Завдяки своїй простоті, ефективності та відсутності необхідності інформації про послідовність. RAPD набув значення серед багатьох інших методів на основі ампліфікації геномної ДНК із використанням випадкових праймерів із довільною послідовністю.

Маркери випадкової ампліфікованої поліморфна ДНК (RAPD) можна використовувати для виявлення поліморфізму ДНК без необхідності попередньо визначених генетичних даних. Кожен продукт походить від ділянки геному, яка містить два коротких сегменти в оберненій орієнтації, на протилежних пасмах, які доповнюють праймер і розташовані достатньо близько один до одного для ампліфікації [2].

Мікросателітні, або прості послідовності, що повторюються (SSR) є дуже мінливими локусами, які можуть бути присутніми в багатьох сайтах геному. Оскільки генна послідовність цих сайтів може бути унікальною, праймери можуть бути призначені для виявлення фланкуючої послідовності. SSR забезпечують високоінформативні маркери оскільки вони є співдомінантними (на відміну від RAPD) і зазвичай мають високий вміст поліморфної інформації

Порівняльні дослідження маркерів RAPD і SSR проводилися серед широкого спектру видів сільськогосподарських культур, включаючи кукурудзу, сою, ячмінь, сорго, рис та пшеницю і загалом виявили, що висока відповідність між генетичними моделями може бути виявлена за допомогою двох генетичних маркерів [1, 2].

## Література

1. Shukre V.M., Chavan N.S., Patil Y.K. Assessment of Genetic Diversity among Wheat Varieties in Aurangabad Using RAPD Analysis. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. Volume 4 Number 8 (2015) pp. 671-694.
2. Zeshan A., Afzal M., Alghamdi S. S., Kettener K., Ali M., Mubushar M., Ahmad S. Evaluation of Genetic Diversity among the Pakistani Wheat (*Triticum aestivum* L.) Lines through Random Molecular Markers. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 59. 2016. pp. 1 – 10.