





Таблиця 3. Розміри мультилокусних алелів RAPD-маркерів

Локуси	Алелі								К-ть алелів, шт.	PIC
	A	B	C	D	E	F	G	H		
№1	60	85	90	197	216	253	286		7	0,73
№2	78	100	125	250	261				5	0,6+
№3	55	151							2	-
№4	55	62	100	114	134	164	248	297	8	0,79
Загальна кількість алелів, шт.									22	
Середня кількість алелів на один локус, шт.									2,2	

ментальним шляхом. Важливим елементом проведення ПЦР є температура відпау праймерів, яку було уніфіковано для праймерів і становила 40°C. Результати ампліфікації генотипів біоєкологічних форм осики та виявлені розміри амплі-

кованих локусів наведено в табл. 4). Згідно наведених даних (табл. 4), зафіксовано різну кількість ампліфікованих алелів форм осики за різними RAPD-локусами. Так, нами виявлено, що перша форма має 8 алелів, друга – 10, третя –

Таблиця 4. ДНК профіль форм осики за RAPD-маркерами

RAPD-маркер	Алель	Форми осики			
		зеленокоря	сірокоря	білокоря	темнокоря
№1	A	-	-	-	+
	B	-	-	+	+
	C	+	-	-	-
	D	-	-	+	-
	E	+	-	-	-
	F	-	-	+	-
	G	-	+	-	-
№2	A	-	+	-	-
	B	+	+	+	+
	C	+	+	+	+
	D	+	+	+	+
	E	-	+	+	+
№3	A	+	+	+	+
	B	+	+	+	+
№4	A	-	-	-	+
	B	-	+	+	-
	C	+	+	+	+
	D	+	-	+	+
	E	-	+	+	+
	F	-	-	+	-
	G	-	-	+	-



Таблиця 5. Бінарний код форм осики (Ф1 – сірокоря, Ф2 – білокоря, Ф3 – темнокоря, Ф4 – зеленокоря)

Код форми	С.№1				С.№2				С.№3				С.№4			
	A	B	C	D	E	F	G	A	B	C	D	E	F	G	H	
Ф1	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	0	0
Ф2	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0
Ф3	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1
Ф4	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0

14, четверта – 11 алелів. Для створення комп'ютерної бази даних генетичних паспортів генотипів осики нами переведено дані в табл. 5 у бінарний вираз. Наявність або відсутність певного алеля позначали "1" або "0" відповідно.

За таким принципом можна побудувати генетичний паспорт будь-якого генотипу. Це дозволяє легко ідентифікувати і диференціювати проаналізовані, за даними 10 RAPD-локусів, будь-які форми та вихідний селекційний матеріал осики. Таким чином, аналіз генетичних паспортів осики за 10 RAPD-маркерів показав, що кожен представлений генотип має власний, унікальний набір алелів, який

дозволяє розрізнити їх за умов проведення RAPD-ПЦР аналізу.

На підставі поліморфізму RAPD-маркерів побудовано дендрограму філогенетичних взаємозв'язків, розраховану за наявними алеліми десяти локусів чотирьох біоєкологічних форм осики. Показано, що найбільшу спорідненість мають форми осики дві і чотирі (0,64), а найвіддаленішими формами є одні і три (0,33). Усі генотипи рослини осики мають чітку філогенетичну відмінність (рис.).

**Висновки**  
Осика характеризується поліморфізмом ДНК, який виявляється за допомогою методу RAPD-ПЦР та відсутністю його в межах зелено-, сіро-, біло- та темнокорих біоєкологічних форм осики.

Охарактеризовано біоєкологічні форми осики за RAPD-маркерами та виявлено специфічні фрагменти для кожної з них. На підставі бінарного коду вперше створено базу форм осики, які зростають в Україні.

З урахуванням аналізу молекулярно-генетичного поліморфізму встановлено філогенетичні зв'язки біоєкологічних форм осики. Зеленокоря форма виявилась найвіддаленішою.

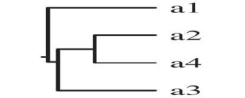


Рис. Дендрограма філогенетичних взаємозв'язків на основі 10 RAPD-маркерів біоєкологічних форм осики (a1 – зелено-, a2 – сіро-, a3 – біло- та a4 – темнокоря).

Література

- Булгач Н. Е. Дендрология: Учебное пособие для вузов. – М.: Агропромиздат, 1985. – 280 с.
- Бутенко Р. Г. Биология клеток высших растений *in vitro* в биотехнологии на их основе: Учеб. пособие. – М.: УЭК-Пресс, 1999. – 160 с.
- Зачуч В. Я. Дендрология. Покриттосівні: Навчальний посібник. – Львів: Камула, 2004. – 408 с.
- Кушнір П.І., Сарыцама В.В. Мікролокальне розмноження рослини, теорія і практика. – К.: Наук. думка, 2005. – 270 с.



- Нестеров Н. С. Значение осины в русском лесоводстве. – 2-е изд. – М.: Типография М.Г. Волчанникова, 1894 – 77 с.
- Сулячев В. Н. Дендрология с основами лесной геоботаники. – 2-е изд. – Л.: Рослестехиздат, 1938. – 376 с.
- Цилорик А. В. Некоторые данные о поражаемости сердцевинной гнилью разных форм осины // Лесоводство и агролесомелиорация. – 1965. – № 2. – С. 128–131.
- Цилорик А. В. Оздоровлення і вирощування осикових насаджень в Україні. – К.: НВЦ, 1995. – 115 с.
- Яблоков А. С. Воспитание и разведение здоровой осины. – М.: Гослесбумиздат, 1963. – 441 с.
- Сиволоп Ю.М. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях. – К.: Аграрна наука, 1998. – 156 с.
- Rapid and simple methods for purification of nucleic acids // R. Boom, C.J.A. Sol, M.M. Salimans, C.L. Jansen et al. // J. Clin. Microbiol. – 1990. – 28. – P. 495–503.
- Genetic divergence of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) population in Serbia revealed by RAPD // A. Lucic, V. Isac, L. Rakonjac, D.Ristic, M. Kostadinovic, V. Babic and A. Nikolic // Arch. Biol. Sci., Belgrade. – 2011. – №2. – P.371–380.

АННОТАЦІЯ

Мельничук М.Д., Григорюк І.П., Оверченко В.В., Антіпов І.А., Білоус С.Ю., Гринчук К.В. ДНК-ідентифікація форм осики (*Populus tremula* L.) з допомогою RAPD-маркерів // Біоресурси та природокористування. – 2012. – 4, № 5-6. – С. 5-11.

Овочены основные этапы и результаты генетического полиморфизма четырех форм осики с использованием RAPD-маркерів. Разработана собственная универсальная RAPD-ПЦР-тест система для ДНК-идентификации и дифференциации генотипов осики.

SUMMARY

M. Melnychuk, I. Hrygoryuk, V. Overchenko, I. Antipov, S. Bilous, K. Hrynychuk. DNA identification of forms of aspen (*Populus tremula* L.) using RAPD-markers // Biological Resources and Nature Management. – 2012. – 4, № 5-6. – P. 5-11.

The basic stages and results of the genetic polymorphism of four forms aspen using RAPD-markers are shown. In the result of the research the own universal RAPD-PCR-test system for DNA identification and differentiation of genotypes of aspen, have been developed.