

УДК 633.85:577.2.08

САХАРОВА В. Г., БЛЮМ Р. Я., РАБОКОНЬ А. М.

ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України», вул. Осиповського, 2А, м. Київ, 04123, Україна

email: vl_saharova@ukr.net, тел/факс: +38(044)463-05-32, +38(044)463-15-31

ОСОБЛИВОСТІ ВИДІЛЕННЯ ДНК ІЗ ГЕРБАРНИХ ЗРАЗКІВ РИЖІЮ ДРІБНОПЛОДОГО (*CAMELINA MICROCARPA* ANDRZ. EX DC)

Рижій дрібноплодий (*Camelina microcarpa* Andrz. ex DC) – дикий предок окультуреного рижію посівного (*Camelina sativa* (L.) Crantz) – цінної олійної культури, який має подібні з ним розміри геному, плоідність та здатен вільно гібридуватись. Сучасні сорти рижію посівного характеризуються низькою генетичною різноманітністю, що суттєво обмежує можливості селекційного вдосконалення цієї олійної рослини. Саме тому дослідження генетичної мінливості *C. microcarpa* та подальше схрещування з рижієм посівним може сприяти збільшенню генетичної різноманітності та покращенню агрономічних властивостей останнього.

Одним з можливих і, одночасно, важливих шляхів дослідження генетичного різноманіття *C. microcarpa* є аналіз гербарних зразків, для чого спочатку потрібно виділити ДНК. Зневоднені (висушені) тканини – достатньо складний матеріал для подібної роботи, оскільки з часом геномна ДНК руйнується, тому найбільш оптимальними вважаються гербарні зразки, вік яких не перевищують 30-40 років. При цьому найкращим органом рослини для виділення ДНК із висушеної тканини вважається листок.

Незважаючи на велику кількість модифікацій методів виділення ДНК, в ході роботи нами було виявлено ряд проблем, пов'язаних з ізолюванням геномної ДНК. Значною мірою подібні складнощі були обумовлені достатньо невеликою наважкою матеріалу (менше 0,1 г) та значним віком гербарних зразків (наприклад, ряд зразків датувався 1873-м роком). Також деякі зразки були представлені повністю зрілими рослинами, майже позбавленими листків, але з великою кількістю дозрілих стручечків. Стулки таких стручечків є досить складним матеріалом для виділення ДНК, оскільки представляють собою тканини, що вже були частково відмерлі до моменту збору зразку.

Нами була застосована модифікація методу виділення ДНК (Drábková, et al., 2002, Drábková, 2014) з використанням DNeasy Plant Mini Kit (QIAgen). Найкращі результати для виділення ДНК з листків були досягнені при збільшенні часу інкубації до 1 год (замість 30 хв) та додаванні 30 мкл ТЕ буферу (замість 50 мкл). Для кращої візуалізації фрагментів в поліакриламідному гелі при ПЛР додавали 3 мкл зразку ДНК (замість 0,5 мкл). При використанні методу ЦТАБ та його модифікації, описаної раніше (Drábková, et al., 2002, Drábková, 2014), не було отримано якісних результатів. Слід зазначити, що через низьку концентрацію ДНК її наявність було неможливо визначити за допомогою спектрофотометра, тому присутність ДНК в пробах визначали за допомогою ПЛР з подальшим електрофорезом в поліакриламідному гелі.

Оскільки в гербарних зразках *C. microcarpa*, представлених стулками стручечків, містилося набагато менше ДНК, яка була більш деградована, ніж в листках, модифікація з використанням DNeasy Plant Mini Kit (QIAgen) не давала ефективних результатів. Найкращі результати спостерігалися при використанні DNeasy Plant Pro Kit (QIAgen) та додаванні 30 мкл ТЕ буферу замість 50-100 мкл.

Отже, для виділення ДНК з гербарних зразків *C. microcarpa* (будь-якого строку давності) за допомогою наборів DNeasy Plant Mini Kit (для листків) та DNeasy Plant Pro Kit (для стулок стручечків) найкращі результати були досягнуті при збільшенні часу інкубації проб та при збільшенні концентрації ДНК за рахунок зменшення кількості ТЕ буферу, а також при використанні більшої кількості ДНК для проведення ПЛР.

Ключові слова: рижій дрібноплодий, гербарний матеріал, геномна ДНК