УДК 633:582.547.11

НОВІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ГЕНОМНОГО СТАТУСУ ВИДІВ РОДУ MISCANTHUS В ПРИРОДНО-КЛІМАТИЧНИХ УМОВАХ УКРАЇНИ

КОВАЛЬЧУК Н.С. - зав. лаб. цитогенетики, с.н.с., ІБКіЦБ E-mail: natalakovalcuk461@gmail.com,
ГОНЧАРУК Н.С. - к.с.г.н., зав.лаб. технології вирощування біоенергетичних культур ЯДСС,
НЕДЯК Т.М. - н.с. лаб. цитогенетики,
ЯЦЕВА О.А. - к.с. г.н., зав.сектором,
КВАК В.М. - к.с.г.н., с.н.с.
Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН,
Вул. Клінічна, 25, Київ, 03110, Україна Тел. (044) 275-50-00, факс (044) 275-50-00
E-mail: sugarbeet@ukr.net www.sugarbeet.com.ua

Постановка проблеми. Виробництво біомаси заслуговує на особливу увагу, як відновлюване джерело енергії, через обмеженість ресурсів викопних видів палива та збільшення шкідливого впливу на клімат планети [1, 2]. Беручи до уваги тип фотосинтезу С4, у міскантуса фіксація вуглецю відбувається значно швидше, використання поживних речовин, води, сонячного випромінювання є ефективнішим, порівняно з іншими рослинами. За даними дослідників біоенергетичних культур всі ці фізіологічні властивості впливають на адаптацію до різних ґрунтово-кліматичних умов України та продуктивність садивного матеріалу [3]. До останнього часу основні критерії систематики роду Miscanthus Anderss часто змінюються. Більшість відносять його до родини Poaceae [4]. Рід нараховує близько 12 видів, серед яких найбільш цінними для виробництва біомаси є M. sacchariflorus, M. sinensis, M. x giganteus (3x), і M. floridulus [5]. У Європі культивування Miscanthus – це вирощування, головним чином, M. x giganteus (3x) тропічного і субтропічного походження [5, 6]. M. x giganteus (2n = 3x = 57) – міжвидовий гібрид, отриманий від природної гібридизації диплоїдного виду M. sinensis (2n = 2x = 38) і тетраплоїда M. sacchariflorus (2n = 4x = 76). Висока продуктивність біомаси отриманого триплоїда визначається насамперед ефектом гетерозису й об'єднанням трьох геномів, який виникає в гібридних комбінаціях [7]. Як наслідок, стерильний M. x giganteus (3x) відтворюється тільки вегетативним способом – ризомами, проростками кореневищ або в культурі in vitro. Особливість розмноження визначає ризик його виходу з екосистеми та призводить до вкрай обмеженої генетичної різноманітності [7].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Miscanthus giganteus - високопродуктивний стерильний триплоїдний гібрид, що був виділений із природних популяцій Японії та характеризується в світовій літературі значним потенціалом, як альтернативне джерело енергії. В Японії в 2011 році були досліджені природні популяції компонентів M. x giganteus (3x), тетраплоїда M. sacchariflorus (4x) та диплоїда M. sinensis (2x) для виділення нових триплоїдних клонів [8]. Цілком реальний вважається той факт, що триплоїдні рослини зібрані в Kushima можуть бути також результатом гібридизації як між (4x) M. sacchariflorus і (2x) M. sinensis, так і завдяки самосумісності (4x) M. sacchariflorus, через запліднення між 2x яйцеклітиною та 1x пилком. Культивування генетично-однорідних клонів вимагає дослідження ризику стійкості до хвороб, зимостійкості [6]. На даний час завдання полягає в тому, щоб промоніторити існуючі природні колекції й розширити генетичну базу M. x giganteus (3)x.

За літературними джерелами, в світовій біоенергетиці вирощується два або три ідентичні клони, але, на думку дослідників, існує величезна ймовірність того, що широкомасштабне вирощування міскантусу на біомасу в Європі базується на використанні лише одного клону [4]. Описано також аналогічна ситуація, що спостерігається в Північній Америці, де культивовані генотипи M. x giganteus (3x), були отримані за допомогою вегетативного розмноження від одного клону європейського походження [9]. Використовуючи ДНК-технології Greef і ін. (1997) за методом AFLP, відібрали 31 зразок M. x giganteus (3x), 11 клонів M. sinensis і 2 клони M. sacchariflorus, доцільних для вирощування в ботанічних садах і розсадниках Центральної Європи. На думку дослідників з ботаніки та систематики, генотиповий пул M. x giganteus (3x) відзначається низькою різноманітністю, тільки три зразки їм вдалося ідентифікувати з використанням молекулярно-генетичних маркерів [6]. В іншому дослідженні, De Cesare і ін. (2010) підтвердили, що 14 з 15 зразків M. x giganteus (3x), які були проаналізовані за шістьма cpSSR маркерними локусами, належали до одного гаплотипу, в той час як M. sinensis і M. sacchariflorus показали високий рівень поліморфізму для певних алелей.

Іще в 70-х роках минулого століття мінливість за плоїдністю міскантусу з використанням цитологічного аналізу метафазних хромосом в природних популяціях спостерігали іноземні дослідники, від диплоїдів – 38 хромосом до гексаплоїдів – 114 хромосом (Andersson,1969). У польських дослідників рівень плоїдності у видів роду Miscanthus змінювався від 2 до 6 [5]. За даними Hastings, A.,(2009) базовою плоїдністю M. sinensis є 2x, проте поширені природні та штучні поліплоїди (наприклад, триплоїд M. sinensis «Голіаф»). Досліджено, що в природних популяціях Китаю Miscanthus sacchariflorus зазвичай диплоїдної форми, на відміну від Японії, проте в цього виду існує цілий ряд варіантів плоїдності аж до гексаплоїдного. На основі компонентів схрещування M. x giganteus (3x), Ma, X. F., та ін. (2012) вже отримали тетраплоїди та пентаплоїди. Вони є джерелом вдосконалення видів M. x giganteus (3x) на біомасу в нових природних кліматичних умовах.

Одним з основних таксономічних показників міскантусів є рівень плоїдності геному. Цитологічні методи в диплоїдних видів міскантусів 2n=2x=38 хромосом, триплоїдних видів 2n=3x=57 хромосом і тетраплоїдних форм 2n=4x=76 хромосом є досить затратними й трудомісткими. Нові методи визначення геномного статусу рослин міскантусів з використанням проточної флуорисцентної цитофотометрії та комп'ютерних програм АП «Partec»

досліджуються в різних країнах світу й визнані перспективними. В якості еталону за кількісним вмістом ядерної ДНК для АП «Partec» дослідники міскантусів використовують диплоїдні рослини сорго зернового (Sorghum bicolor), гороху посівного (Pizum sativum) L. та M. sinensis 2x=38, попередньо визначені за кількістю хромосом [5,6,8]. З використанням ДНК-технологій було показано, що геном сорго має тісніший зв'язок з Miscanthus, аніж із кукурудзою, рисом і Brachypodium distachyon [5]. А тому вид Sorghum bicolor був вперше успішно використаний, в якості еталону кількісного вмісту ядерного ДНК для пошуку триплоїдів серед проростків насіння природних симпатричних популяцій міскантусів у Японії [8]. Методика визначення рівня плоїдності геному має вирішальне значення в класифікації трьох основних видів і для створення нових поліплоїдних рядів міскантусу. А тому метою наукових досліджень є розробка та впровадження методики визначення геномного статусу різних видів роду Miscanthus за кількісним вмістом ядерної ДНК із використанням комп'ютерних програм АП "Partec" і гармонізація її з європейськими для контролювання плоїдності видів інтродукованих у природно-кліматичних умовах України й розвитку селекції нових клонів, альтернативних Miscanthus giganteus (3x).

Матеріал і методи дослідження. Серед вихідних матеріалів для оптимізації методики визначення рівня плоїдності геному використані Miscanthus x giganteus (3x), Miscanthus sinensis (2x), Miscanthus sacchariflorus (4x), розмножені на Ялтушківській ДСС ІБКіЦБ. На селекційній станції визначені їх морфологічні особливості, встановлені терміни цвітіння, імовірності зав'язування насіння, особливості росту і розвитку, формування ризом в умовах України. Використані наступні колекційні зразки Ялтушківської ДСС: Miscanthus x giganteus (3x) (три клони походження ecotype 1 «Poland», ecotype 2 «Austria», ecotype 3 Great Britain; Miscanthus sinensis ecotype 1 «Poland»; Miscanthus sacchariflorus ecotype 1 «Poland»; Miscanthus mearly «Germany» фірма «Jelitto»; Miscanthus latte «Germany» фірма «Jelitto»; Miscanthus sinensis new «Germany» ecotype 2 фірма «Jelitto».

Методика визначення плоїдності міскантусів із використанням комп'ютерних програм аналізатора плоїдності «Partec». Для добору зовнішніх стандартів і еталонів за маси ДНК представників роду Miscanthus, досліджували за кількістю хромосом:

- диплоїдні вітчизняні сорти проса (2x=18) рід (Panicum) сорт "Поляно" селекції Веселоподільської ДСС, родина злакових (Glamineae);
- сорго зернове (2x=20) сорт «Дніпровський», рід (Sorghum);
- вид Sorghum bicolor; - Miscanthus sinensis ecotype 1 «Poland» (2x=38).

Для виділення контрольного генотипу (еталону) за кількістю хромосом проводили модифікацію методики ацетоорсеїнового забарвлення меристемних клітин проростків насіння Паушева З. П. (1980). Використовували її також для метафазного аналізу хромосом новоутворених бокових коренів підземних пагонів (ризом) міскантусів.

Відібрані селекційні зразки насіння сорго зернового (2x=20) пророщували до формування справжніх листочків і використовують в якості зовнішнього стандарту маси ядерної ДНК на АП «Partec» (рис.1а,б,в). Досліджені за плоїдністю колекційні зразки Miscanthus sinensis (2x=38) вводили в стерильну культуру та зберігають в умовах in vitro. Методика визначення стандартного генотипу узгоджена і нормалізована з раніше опублікованими основними показниками гістограм ядерної ДНК поліплоїдних видів міскантусів японських і польських дослідників [5,8].

Результати і обговорення. Найбільш повне уявлення про плоїдність клітин рослинних тканин може дати цитофотометричне вивчення вмісту ДНК в клітинних ядрах. Метод проточної цитофотометрії дозволяє визначити мінливість за рівнем плоїдності геному в рослинних тканинах і не залежить від випадковості поділу клітини, як цитологічний. Для досягнення якісних гістограм із низьким коефіцієнтом варіації в межах каналу за гістограмами АП «Partec» аналізувались: листки вегетуючих рослин; генеративні пагони; ризоми різних видів міскантусу; листки клонів міскантусу, розмноженого в умовах in vitro. Результати пошуку оптимальних об'єктів для аналізу з низьким коефіцієнтом варіації наведені в таблиці 1.

Експериментальні дані табл. 1 включають інформацію про мінливість коефіцієнту варіації, залежно від способу репродукції in vivo, in vitro та рівня плоїдності геному. Визначено, що дієвим об'єктом з низьким коефіцієнтом варіації є генеративні пагони та листки клонів міскантусу, розмножені в умовах in vitro. Встановлено, що для дослідження плоїдності міскантусів можна використовувати вегетативні пагони, ризоми, листя, генеративні пагони, листки клонів з культури in vitro.

Для приготування суспензії клітин:

- об'єкт для аналізу відділяють і подрібнюють лезом в чашках Петрі з додаванням 1,5мл буферного розчину (Hamada and Fujcta 1983);
- готують буферний розчин і використовують для зміни проникності клітинних мембран; склад «Тріс-буферу»: 10мМ – аміном етан; 10мМ – Na2 – EDTA; 100мМ – NaCl; pH – 7.7; 100мл – маточного розчину DAPI (Німеччина).

Пробірки з суспензією клітин підключають до електродів. Гістограми описують розподіл досліджуваних клітинних субстанцій, а саме визначають кількість клітин з певним вмістом ядерної ДНК:

- вісь Ox (a channel) – кількісні класи досліджуваної клітинної субстанції (наприклад, ДНК);
- вісь Oy (a count) – кількість клітин в кожному каналі;

Кількість вимірів приладу становить від 2 до 150 тис. ядер на зразок.

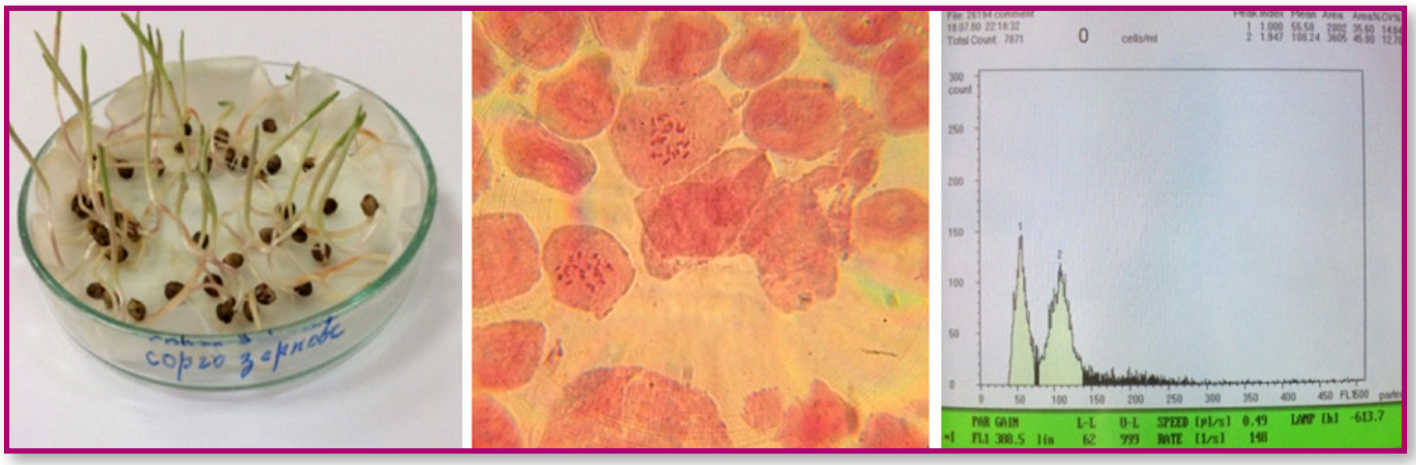
Збільшення значення підсилення (FL1) підбираємо таким чином, щоб G1 пік досліджуваних ядер виділених із зовнішнього стандарту, в даному випадку диплоїдного сорго зернового (Sorghum bicolor) спостерігавсь на каналі 50 од. (G1) і 100 од. (G2).

Таблиця 1. **Визначення оптимальних об'єктів для аналізу плоїдності міскантусу на АП «Partec» за мінливістю коефіцієнту варіації**

№ п/п	Види міскантусу	Плоїдність	Об'єкти для аналізу	Мінливість коефіцієнту варіації, % (CV*)
1	Miscanthus sinensis	2x	вегетативні пагони	5,06-6,00
			листя	8,08-16,33
			генеративні пагони	2,55-3,07
			in vitro	5,02-9,05
2	Miscanthus sacchariflorus	2x	вегетативні пагони	6,01-9,00
			листя	9,10-14,58
			генеративні пагони	4,08-7,09
			in vitro	1,1-6,88
3	Miscanthus giganteus	3x	ризоми	8,60-13,73
			листя	9,00-12,48
			генеративні пагони	5,99-7,08
			in vitro	4,98-7,09

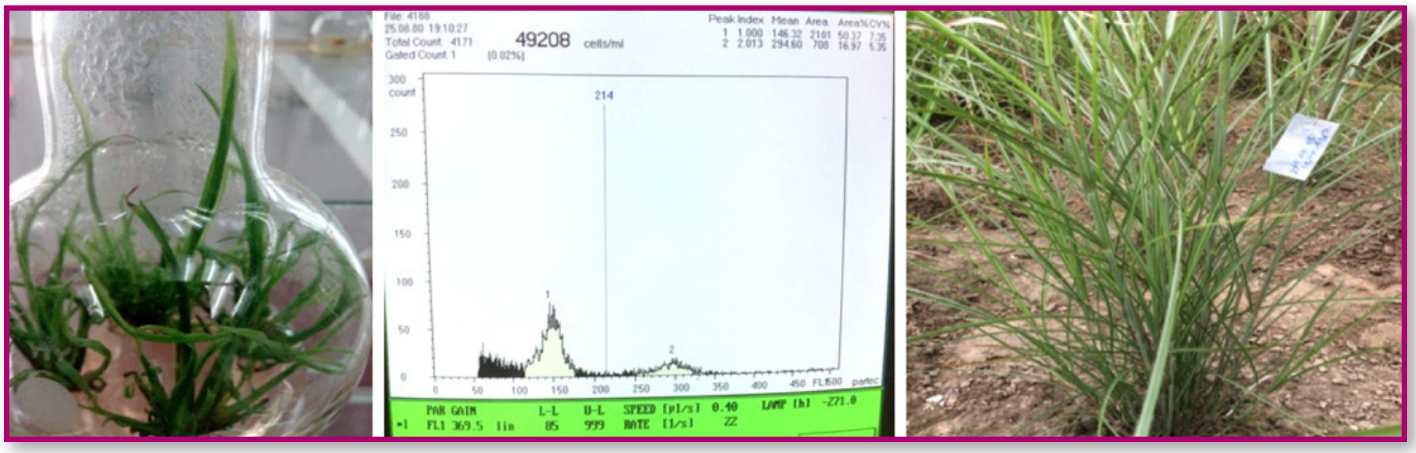
Примітка: *CV* - мінливість коефіцієнту варіації в межах клітин основної фракції ДНК на гістограмах АП «Partec».*

Додаток А
Визначення плоїдності представників різних видів роду Miscanthus з використанням цитологічних і цитофотометричних методів



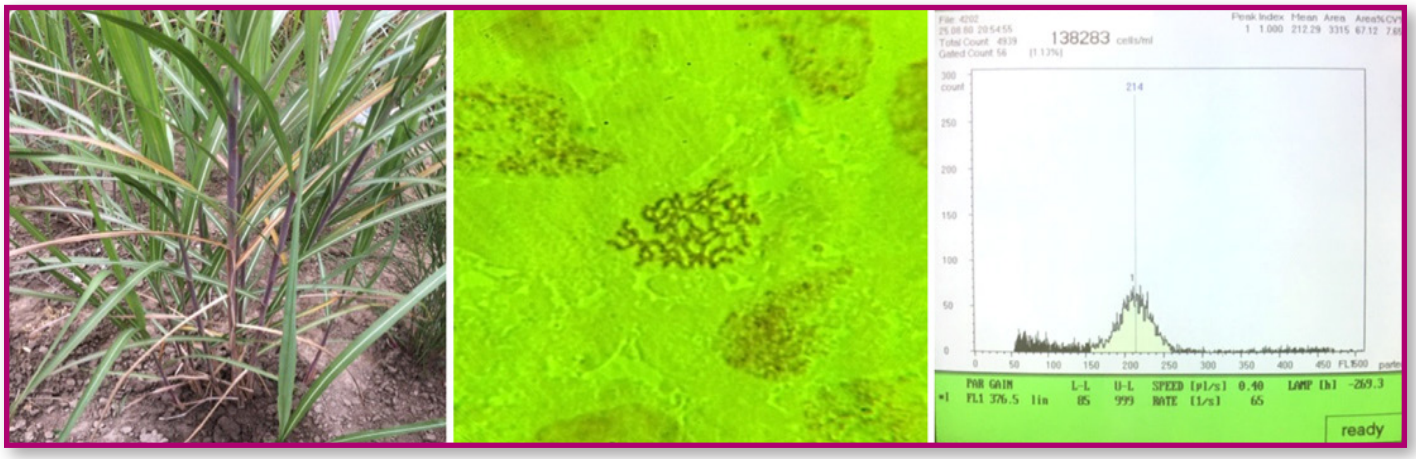
а) б) в)

Рис.1. *Добір контрольного генотипу за кількісним вмістом ядерної ДНК на АП «Partec»: а) проростки сорго, як об'єкт для визначення плоїдності; б) метафазні хромосоми Sorghum bicolor (2x=20); в) гістограми ядерної ДНК Sorghum bicolor.*



а) б) в)

Рис.2. *Визначення плоїдності представників роду Miscanthus: а) Miscanthus sinensis (2x=38), в умовах in vitro як еталон для визначення плоїдності на АП «Partec»; б) гістограма ядерної ДНК Miscanthus sinensis ecotype I «Poland» і Miscanthus sacchariflorus ecotype I «Poland» з тих ДНК на каналах 150 од. і 300 од.; в) Miscanthus sacchariflorus (2x=38) першого року вегетації на дослідному полі ІБКіЦБ.*



а) б) в)

Рис.3. *Аналіз плоїдності Miscanthus giganteus ecotype 2 «Austria» за кількістю хромосом і гістограмами АП «Partec»: а) Miscanthus giganteus ecotype 2 «Austria» в умовах in vitro; б) метафазні хромосоми Miscanthus giganteus(2n=3x=57) при збільшенні 12,5x100 визначені способом аналізу меристем проростків ризом; в) гістограми ядерної ДНК Miscanthus giganteus ecotype 2 «Austria» » з тих ДНК на каналах 200 од. і 400 од.*

Встановлено, що для виду Miscanthus sinensis ecotype 2 «Germany» (2x=38) відносно маси ядерної ДНК зовнішніх стандартів, диплоїдному рівню геному відповідає кількісний клас на каналі 150 од. і клас клітинної субстанції (G2) синтетичного і постсинтетичного періоду клітинного циклу на каналі 300 од. (рис.2 а,б,в). Колекційні зразки Miscanthus latte «Germany» та Miscanthus mearly «Germany» (2x=38), що використовується фірмою «Jelitto» як декоративні сорти, за гістограмами ядерної ДНК відповідали також диплоїдному рівню геному. В якості об'єкту для аналізу були використані генеративні пагони, листки вегетуючих рослин, відібраних у сформованій симпатричній популяції на основі проростків кореневищ Ялтушківської ДСС. Miscanthus x giganteus (3x) ecotype 1 «Poland» і Miscanthus x giganteus (3x) ecotype 2 «Austria» характеризувалися розподілом за кількісним вмістом ядерної ДНК на каналах 200 од. (G1) і 400 од. (G2) відповідно встановленому нами зовнішньому стандарту сорго зернового Sorghum bicolor (рис.3 а,б,в)

Для введення в стерильну культуру і створення поліплоїдних рядів міскантусів в умовах in vitro, використана методика ІБКіЦБ (Роїк М.В., 2012р.). Найбільш важливі три види Miscanthus sacchariflorus ecotype I «Poland», Miscanthus sinensis ecotype I «Poland», Miscanthus sinensis nev ecotype 2 «Germany», Miscanthus x giganteus (3x) ecotype 1 «Poland» і екотип 2 «Austria».

З опису різних видів міскантусу, інтродукованих на Ялтушківській ДСС ІБКіЦБ, лабораторії вирощування біоенергетичних культур, Miscanthus sacchariflorus ecotype I «Poland» – міскантус цукроквітковий є тетраплоїдним видом і компонентом схрещування для триплоїдного клона Miscanthus x giganteus (3x). У більшості випадків – це тетраплоїд з кількістю хромосом 76. Тетраплоїдний рівень геному в матеріалі не був підтверджений за результатом аналізу плоїдності на АП «Partec» (рис.2 в).

За результатами аналізу плоїдності вегетативно розмножених ризомами триплоїдних рослин Miscanthus x giganteus (3x) другого року вегетації європейського походження в умовах України, відзначаємо лише незначну гетерогенність популяцій і присутність ризом як з гіперанеуплоїдним, так і гіпоанеуплоїдним станом геному. Відібраний вихідний матеріал за вегетативною масою і триплоїдним рівнем геному садивного матеріалу (ризом) планується розмножити і тиражувати для відновлення сортової чистоти і продуктивних властивостей Miscanthus x giganteus (3x) ecotype 2 «Austria» і ecotype 1 «Poland» в польових умовах.

Висновки

1. Освоєна і гармонізована з зарубіжними методика визначення плоїдності міскантусу з використанням комп'ютерних програм АП «Partec» за кількісним вмістом ядерної ДНК в клітині.

2. Встановлені в якості еталонів за масою ядерної ДНК Sorghum bicolor (2x=20) сорт (Дніпровський) і Miscanthus sinensis 2n=3x=59, попередньо визначені за кількістю хромосом.

3. Проведений аналіз геномного статусу різних видів роду Miscanthus, інтродукованих в природно-кліматичних умовах України для створення поліплоїдних рядів в умовах in vitro і контролювання сортової чистоти садивного матеріалу.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Heaton, E. A., Clifton-Brown, J., Voigt, T. B., Jones, M. B., & Long, S. P. (2004). Miscanthus for renewable energy generation: European Union experience and projections for Illinois. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change, 9, 433–451.

2. Smeets, E. M. W., Lewandowski, I. M., & Faaij, A. P. C. (2009). The economical and environmental performance of miscanthus and switchgrass production and supply chains in a European setting. Renewable & Sustainable Energy Reviews, 13, 1230–1245.

3. Гументик М. (2017). Вплив методу посадки на продуктивність кореневищ міскантуса в умовах Лісостепу України. Біоенергетика, 1, 26-29.

4. Hodkinson, T. R., Chase, M. W., Lledo, M. D., Salamin, N., & Renvoize, S. A. (2002). Phylogenetics of Miscanthus, Saccharum and related genera (Saccharinae, Andropogoneae, Poaceae) based on DNA sequences from ITS nuclear ribosomal DNA and plastid trnL intron and trnL-F intergenic spacers. Plant Research, 115, 381–392.

5. J. Maksimović, R. Pivić, A. Stanojkovć-Sebiić, M. Vučić-Kišgeci. Plating density impact on weed infestation and the yield of Miscanthus grown on two soil types/Mol Biotechnol, 2014.

6. Zub, H. W., & Brancourt-Hulmel, M. (2010). Agronomic and physiological performances of different species of Miscanthus, a major energy crop: A review. Agronomy for Sustainable Development, 30, 201–214.

7. Atkinson, C. J. (2009). Establishing perennial grass energy crops in the UK: A review of current propagation options for Miscanthus. Biomass and Bioenergy, 33, 752–759.

8. Aya Nishiwaki, Aki Mizuguti, Shotaro Kuwabara, Yo Toma. Discovery of natural Miscanthus (poaceae) triploid plants in sympatric populations of Miscanthus sacchariflorus and Miscanthus sinensis in southern japan. American Journal of Botany 98(1): 154-159. 2011.

9. Glowacka, K., Adhikari, S., Stewart, R. J., Nishiwaki, A., Yamada, T., Jørgensen, U., Hodkinson, T. R., Gifford, J., Juvik, J. A., Sacks, E. J. (2013) Genetic diversity in Miscanthus 9 giganteus: an abstract nr P0719. In: Plant and Animal Genome XXI, online materials. Retrieved.

АНОТАЦІЯ

УДК 633:582.547.11

Нові методи дослідження геномного статусу видів роду miscanthus в природно-кліматичних умовах України

Ковальчук Н.С. - зав. лаб. цитогенетики, с.н.с., ІБКіЦБ E-mail: natalakovalcuk461@gmail.com,
Гончарук Н.С. - к.с.г.н., зав.лаб. технології вирощування біоенергетичних культур ЯДСС,
Недяк Т.М. - н.с. лаб. цитогенетики,
Яцева О.А. к.с. г.н., зав.сектором ІБКіЦБ,
Квак В.М. - к.с.г.н., с.н.с.
Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН.
Вул. Клінічна, 25, Київ, 03110, Україна Тел. (044) 275-50-00, факс (044) 275-50-00 E-mail: sugarbeet@ukr.net www.sugarbeet.com.ua

Мета. У зв'язку з використанням єдиного триплоїдного клону Miscanthus x giganteus (3x) в Україні європейського генофонду, як найбільш перспективної енергетичної культури, необхідно розробити й узгодити з зарубіжними методиками визначення рівня плоїдності геному для забезпечення сортової чистоти садивного матеріалу, дослідження генетичного різноманіття видів і селекції нових клонів альтернативних Miscanthus x giganteus (3x). **Методи.** Цитологічні, біотехнологічні, флюорисцентної цитофотометрії, польові, лабораторні. **Результати.** На основі аналізу вітчизняних і зарубіжних джерел літератури дана характеристика способам диференціації геномного статусу видів роду Miscanthus з використанням ДНК технологій, цитологічного аналізу кількості хромосом, флюорисцентної цитофотометрії з використанням комп'ютерних програм аналізатора плоїдності (АП) «Partec». Модифіковані класичні методики аналізу метафазних хромосом клітин апікальних меристем із використання різних прийомів: холодової передобробки проростків підземних кореневищ (ризом), мацерації та ацетокармінового забарвлення. Еталоном і контрольним генотипом для визначення плоїдності за кількісним вмістом ядерної ДНК був використаний вітчизняний диплоїдний сорт проса «Поляно» Веселоподільської ДСС та сорт сорго зернового «Дніпровський» (Sorghum). **Висновки.** Проведений аналіз геномної мінливості різних видів роду Miscanthus, розмножених в умовах in vivo та in vitro і зосереджених на використанні європейського генофонду.

Ключові слова: аналізатор плоїдності АП «Partec», біоенергетика, гістограми ядерної ДНК, рівень плоїдності геному, культура in vitro, флуорисцентна цитофотометрія Miscanthus giganteus, Miscanthus sinensis, Miscanthus sacchariflorus.

АННОТАЦИЯ

УДК 633:582.547.11

Новые методы исследования геномного статуса видов рода miscanthus в природно-климатических условиях Украины

Н.С. Ковальчук - зав. лаб. цитогенетики, с.н.с., ИБКиСС E-mail: natalakovalcuk461@gmail.com,
Гончарук Н.С. - к.с.х.н, зав.лаб. технологии выращивания биоэнергетических культур ЯДСС,
Недяк Т.Н.- н.с. лаб. цитогенетики,
Яцева О.А. - к.с. х.н., зав.сектором ИБКиСС,
Квак В.Н. - к.с.х.н, с.н.с.
Институт биоенергетических культур и сахарной свеклы НААН.
Ул. Клиническая, 25, Киев, 03110, Украина Тел. (044) 275-50-00, факс (044) 275-50-00 E-mail: sugarbeet@ukr.net www.sugarbeet.com.ua

Цель. В связи с использованием единого триплоидного клона Miscanthus x giganteus (3x) в Украине, как наиболее перспективной энергетической культуры, необходимо разработать и согласовать с зарубежными методики определения уровня плоидности генома для

обеспечения сортовой чистоты посадочного материала, исследования генетического разнообразия видов и селекции новых клонов альтернативных Miscanthus x giganteus (3x).

Методы. Цитологические, биотехнологические, флюоресцентной цитофотометрии, полевые, лабораторные. **Результаты.** На основе анализа отечественных и зарубежных источников литературы дана характеристика способам дифференциации геномного статуса видов рода Miscanthus с использованием ДНК технологий, цитологического анализа количества хромосом, проточной цитофотометрии и компьютерных программ анализатора плоидности (АП) «Partec». Модифицированные классические методики анализа метафазных хромосом апикальных меристем по использованию различных приемов: холодовой предобработки проростков подземных корневищ (ризом), мацерации и ацетокарминовой окраски. Эталоном и контрольным генотипом для определения плоидности по количественному содержанию ядерной ДНК были использованы отечественные диплоидные сорта проса «Поляно» Веселоподольской ДСС и сорт сорго зернового «Днепровский» (Sorghum). **Выводы.** Проведенный анализ геномной изменчивости различных видов рода Miscanthus, размноженных в условиях in vivo и in vitro, сосредоточенных на использовании европейского генофонда.

Ключевые слова: анализатор плоидности АП «Partec», биоэнергетика, гистограммы ядерной ДНК, уровень плоидности генома, культура in vitro, флуорисцентная цитофотометрия Miscanthus giganteus, Miscanthus sinensis, Miscanthus sacchariflorus.

ABSTRACT

UDC 633:582.547.11

New methods for investigation of gene status of miscanthus species under the natural climatic conditions of Ukraine

N.S. Kovalchuk - head of the Cytogenetics Laboratory IBCSB E-mail: natalakovalcuk461@gmail.com,

Honcharuk N. S.- Candidate of Agricultural Sciences, head of the Laboratory of Growing Bioenergy Crops,

Nediak T. M.- research officer, Cytogenetics Laboratory IBCSB,

Yatseva O. A.- Candidate of Agricultural Sciences, IBCSB,

Kvak V. M.- head of the Laboratory of Growing Technology, IBCSB

Purpose. In view of the use of one of the most promising energy crop Miscanthus x giganteus (3x) in Ukraine as a single triploid clone of the European gene pool, it is necessary to develop methods for determining the level of genotype ploidy and adjust them to foreign analogues to ensure the varietal purity of the planting material, investigation of genetic diversity of species and the breeding new alternative clones of Miscanthus x giganteus (3x). **Methods.** Cytological, biotechnological, fluorescence cytophotometry, field, laboratory. **Results.** Based on the analysis of domestic and foreign literature, the characteristic of various methods for differentiating the genomic status of Miscanthus species has been given using DNA technology, cytological analysis of the chromosome number, fluorescence cytophotometry, and computer software for PARTEC ploidy analyser. Classical methods of analysis of metaphase chromosomes of apical meristem cells have been modified using the following techniques: cold pre-processing of rhizomes, maceration, and acetocarmine staining. Domestic diploid variety of the millet Poliano (Veselopodilska RBS) and grain sorghum variety (Sorghum) Dniprovskyi were used as the standard and the reference genotypes for the determination of ploidy by the quantitative content of nuclear DNA. **Conclusions.** Genomic variability of various species of the genus Miscanthus multiplied both in vivo and in vitro and using European gene pool has been analysed.

Key words: PARTEC ploidy analyser, bioenergy, nuclear DNA histograms, genome ploidy level, culture in vitro, fluorescence cytophotometry, Miscanthus giganteus, Miscanthus sinensis, Miscanthus sacchariflorus.

СВІТ І БІОЕНЕРГЕТИКА

УКРАЇНА СТАЛА ЧЛЕНОМ МІЖНАРОДНОГО АГЕНТСТВА З ВІДНОВЛЮВАНИХ ДЖЕРЕЛ ЕНЕРГІЇ

24 лютого ц.р. Україна набула статусу повноправного члена Міжнародного агентства з відновлюваних джерел енергії (IRENA). Про це йдеться в офіційному документі, оприлюдненому у МЗС Німеччини, передає УНН.

Для України приєднання до IRENA означає вихід на міжнародну арену гравців ринку відновлюваної енергетики, покращення інвестиційного іміджу держави, широкі можливості залучення новітніх світових практик і технологій, а головне – «зелених» інвестицій.

Крім цього, Україна буде офіційним учасником щорічних засідань Асамблеї IRENA, де законодавці та підприємці понад 150 країн світу визначають курс подальших дій та рішень заради зменшення енергозалежності та розвитку «чистої» енергетики.

Одним із ключових факторів стане й те, що участь України в IRENA також розширить рамки співпраці з представниками інших країн світу і дозволить:

- подавати заявки до Фонду розвитку Абу-Дабі щодо отримання пільгових кредитів на «зелені» проекти (під 1-2 % терміном до 20 років, включаючи 5-річний пільговий період, за умови співфінансування 50% вартості проекту);
- більш тісно та плідно співпрацювати із розвинутими державами;
- отримати доступ до передових досліджень, практик і технологій щодо використання відновлюваних джерел енергії (ВДЕ);
- збільшити інвестиції у вітчизняну відновлювану енергетику;
- удосконалювати законодавчу базу та розробляти ефективні механізми стимулювання розвитку «чистої» енергетики.

Україна, за словами в.о. голови Комітету ВР з питань паливно-енергетичного комплексу, ядерної політики та ядерної безпеки Олександра Домбровського, виконала всі свої зобов'язання для повноправного членства у Міжнародному агентстві з відновлювальних джерел енергії (IRENA).

Інф. журналу «Біоенергетика».

УКРАЇНА І НІДЕРЛАНДИ ЗАПОЧАТКУВАЛИ СПІВПРАЦЮ В СФЕРІ ВІДНОВЛЮВАНОЇ ЕНЕРГЕТИКИ

Україна та Нідерланди підписали Меморандум про взаєморозуміння у відновлюваній енергетиці. Як повідомляє прес-служба Держенергоефективності, сторони зустрілися для підписання Меморандуму в м. Утрехт, Нідерланди. Українську сторону представляв голова Держенергоефективності Сергій Савчук, Нідерланди – директор Нідерландського агентства підприємництва Барто Пірсма. В рамках цього документу сторони взяли на себе зобов'язання обмінюватися інформацією щодо кращих практик впровадження «зеленої» енергетики і механізмів їх фінансування, а також сприяти розвитку ділових зв'язків між українськими й нідерландськими компаніями для реалізації спільних інвестиційних проектів у сфері відновлюваної енергетики.

«Держенергоефективності розширює міжнародне співробітництво. У нас вже є налагоджені зв'язки з такими країнами, як Фінляндія, Данія, Словаччина та іншими. Співпраця з Нідерландами дозволить залучати нідерландські інновації та інвестиції, особливо для проектів з біоенергетики», - підкреслив С. Савчук.

Очікується, що Україна та Нідерланди співпрацюватимуть в таких питаннях, як розвиток біоорієнтованої економіки, впровадження біоенергетичних проектів, реалізація реформ в «чистій» енергетиці в Україні, реалізація програми підтримки відновлюваної енергетики SDE + і багатьох інших.

За матеріалами Інтерфакс-Україна: http://www.fixygen.ua/news/20180315/ebrr-planiruet.html.