

Г.Е. АКИНИНА, В.Н. ПОПОВ

Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева
E-mail: vnpop@mail.ru

ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ В СОРТАХ НУТА ЕВРОПЕЙСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ



Изучен полиморфизм 61 сорта нута европейского происхождения по 13 микросателлитным локусам. Выявлены 47 аллельных вариантов. Три локуса были мономорфными, остальные проявляли полиморфизм. Генетическое разнообразие сортов нута по всем локусам, определяемое индексом генетического разнообразия Nei, составило 0,41. Сделан вывод о незначительном разнообразии сортов нута стран Европы по микросателлитным локусам. Наиболее полиморфной группой оказались сорта нута из России ($D = 0,38$), а наименее полиморфной — испанские сорта ($D = 0,25$). Построено согласованное дерево, отражающее наиболее вероятную дивергенцию сортов европейского происхождения, обсуждаются возможные причины объединения сортов нута из разных стран в один кластер.

© Г.Е. АКИНИНА, В.Н. ПОПОВ, 2012

ISSN 0564–3783. Цитология и генетика. 2012. № 1

Введение. Нут (*Cicer arietinum* L.) — важное сельскохозяйственное растение, которое превосходит по питательной ценности многие виды бобовых, включая сою. Нут представляет собой важный источник пищевого белка для большей части населения планеты. Его семена содержат значительное количество минеральных и органических веществ, а также витаминов. Кроме того, одним из значимых достоинств нута является его высокая засухоустойчивость по сравнению с другими зернобобовыми культурами [1]. По всей видимости, это и обуславливает немалый интерес к возделыванию нута в засушливых регионах не только Европы, но и Украины. Посевные площади под этой культурой в Украине интенсивно расширяются в связи с увеличением спроса на зерно нута [2]. В настоящее время под посевами нута в Украине занято порядка 40 тыс. га [3]. При постоянном расширении посевных площадей сельскохозяйственных культур, в том числе и нута, приоритетным направлением для эффективного ведения селекционного процесса по созданию адаптивных и высокоурожайных сортов является формирование, поддержание и использование коллекций генетических ресурсов растений. Такие коллекции, являясь основным источником и хранилищем исходного материала для селекции, часто достигают больших размеров, что может быть связано с дублированием большинства образцов и затруднением эффективного их использования [4]. Например, по данным международного генетического центра ICRISAT (Индия) в период с 1978 по 2004 гг. селекционеры из нескольких тысяч существующих в коллекции образцов нута использовали лишь 480. Подобную ситуацию отмечают и в международном генетическом центре ICARDA (Сирия), где селекционерами за тот же период были вовлечены в скрещивания 250 коллекционных образцов нута для создания 600 линий, из которых впоследствии получили только 31 сорт [5]. В коллекции Национального центра генетических ресурсов растений Украины (НЦГРРУ) на-

ходятся 1734 образца нута, среди которых 22 сорта украинской селекции. Большинство образцов нута НЦГРРУ систематизированы по фенотипическим признакам с установлением их селекционной ценности. Однако до сих пор не проведена оценка генетического разнообразия и дифференциация современных селекционных сортов нута в упомянутой коллекции.

В последние десятилетия для оценки исходного материала и поиска ценных генотипов растений широко используются молекулярно-генетические маркеры [6–9]. Их выбор зависит от видовых особенностей растений и ожидаемого разнообразия в изучаемых популяциях. Известно, что культурный нут является строгим самоопылителем с низким уровнем внутри- и межпопуляционной изменчивости [10]. Незначительное генетическое разнообразие сортов нута было показано с использованием изоферментов [11], запасных белков [12], RFLP и RAPD маркеров [13–15]. В то же время в научных работах представлены результаты, которые показали высокий уровень изменчивости микросателлитных локусов у сортов нута [5, 10, 16]. Значительный полиморфизм микросателлитных локусов позволил дифференцировать сорта нута и оценить наибольшие генетические коллекции нута в ICRISAT и ICARDA [5].

Научные данные по изучению разнообразия украинской коллекции генетических ресурсов нута по молекулярным маркерам в литературе отсутствуют. В связи с этим целью настоящей работы стало изучение полиморфизма микросателлитных локусов и выявление генетической дифференциации сортов нута европейского происхождения.

Материалы и методы. Объектами исследования были 61 сорт нута европейского происхождения из коллекции НЦГРРУ (г. Харьков) (табл. 1). Сорта разделили на пять групп в зависимости от страны происхождения: Украина, Россия, Молдова, Испания – по 12 сортов (всего 48 образцов), а также Италия и Чехия по 4 сорта и Венгрия – 5 сор-

тов, которые в связи с немногочисленностью сортов в коллекции были объединены в общую группу под названием «другие европейские страны» (ДЕС). У каждого из двух испанских сортов (UD0500135 и UD0500134) были выявлены два аллельных варианта по локусу NCPGR 94, что свидетельствовало о наличии внутрисортного полиморфизма. В связи с этим для упомянутых сортов проводили посевной анализ в количестве 18 и 19 семян соответственно. В сорте UD0500135 выявлены два генотипа, в сорте UD0500134 – три, поэтому общая выборка из 61 сорта была представлена 64 генотипами.

Для изучения генетического разнообразия сортов нута были выбраны 13 микросателлитных локусов, описанных другими авторами как полиморфные (табл. 2) [10, 16].

ДНК выделяли из смеси шести семян СТАВ-методом [17]. Полиморфизм микросателлитных локусов изучали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Амплификацию ДНК проводили в пробирках с лиофилизированным набором реактивов для ПЦР (GenePak PCR core) в амплификаторе «Терцик» (РФ). Конечный объем реакционной смеси составил 20 мкл и содержал 20 нг ДНК и 1 мкМ каждого праймера.

Для амплификации использовали программу, предложенную Hüttel et al. [16], с модификациями. Амплификацию проводили с начальной денатурацией – 4 мин при 94 °С с последующими 30 циклами в таком режиме: денатурация – 30 с при 94 °С, отжиг праймеров – 23 с при 50 °С, элонгация – 20 с при 72 °С; конечная элонгация – 5 мин при 72 °С.

Продукты амплификации разделяли методом электрофореза в 3%-ном агарозном геле с бромистым этидием в боратном буфере с низкой ионной силой [18]. Электрофорез проводили в горизонтальном приборе Hoefer SuperSub100. В качестве маркеров молекулярной массы использовали DNA ladders 50 bp и pUC19/MspI DNA Marker.

Полученные гели документировали с помощью фотографирования.

Для определения количества и размеров продуктов амплификации применяли программу Totallab 120 (<http://www.totallab.com>).

Матрицу частот аллелей создавали с помощью программы Converter (<http://www.agriculture.purdue.edu/fnr/html/faculty/Rhodes/Students%20and%20Staff/glaubitz/software.htm>).

Индекс полиморфности (PIC), индекс генетического разнообразия Неи (D), наблюдаемую гетерозиготность (H_o) рассчитывали согласно [19] с использованием программы

Excel при помощи надстройки Microsatellite Tools for Excel (<http://animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit>). В этой же программе рассчитывали количество уникальных, общих и частых аллельных вариантов. Уникальными считали аллельные варианты, которые встречались только у одного сорта из выборки, общими – с частотой встречаемости 1–20 %. Продукты амплификации, которые представлены у более 20 % изученных сортов нута, принимались за частые аллели [5].

Для оценки дивергенции между сортами из разных европейских стран рассчитывали

Таблица 1

Сорта нута коллекции Национального центра генетических ресурсов растений Украины

Страна	Название образца и № по каталогу НЦГРРУ	Количество образцов, шт.
Украина	Луганец (UD500102); Смачный (UD0500417); Добробут (UD0501194); Розанна (UD0500424); Александрит UD0500425); Триумф (UD0501163); Слобожанский (UD0501200); Днепровский высокорослый (UD0500444); Днепровский 5 (UD0500731); Колорит (UD0500429); Пегас (UD05011644); Наум (UD0501532)	12
Россия	Кубанский 199 (UD0500014); Гибрид 25 (UD0500015); Шахтинский (UD0500073); Зеленоградский 36 (UD0500116); Краснокутский 28 (UD0500195); Юбилейный (UD0500259); Крымский 139 (UD0500445); Краснокутский 9 (UD0500442); ВИР 32 (UD0500467); Краснокутский 123 (UD0500101); Совхозный 14 (UD0500719); Заволжский (UD0500762)	12
Молдова	Костюжанский 26 (UD0500087); Знаменка (UD0500461); Местный 1 (UD0500462); Местный 2 (UD0500463); Местный 3 (UD0500464); Кагульский 22 (UD0500691); Костюжанский 217 (UD0500692); Костюжанский 7/13 (UD0500693); Кагульский 75 (UD0500694); Флорештский 58/76 (UD0500695); СЭБ 119 (UD0500734); Кишиневский 1 (UD0500702)	12
Испания	Без названия (UD0500135); Без названия (UD0500134); V 1545 N 211-13 (UD0500136); V 70 N 213-13 (UD0500137); V Negras N 214-13 (UD0500138); V 1378 N 216-13 (UD0500139); V 1548 N 218-13 (UD0500140); N 201B (UD0500141); Без названия (UD0500142); Без названия (UDD0500143); Без названия (UD0500199); Pedrosillano (UD0500223)	12
Чехия	Без названия (UD0500028); Без названия (UD0500052); Без названия (UD0500041); Без названия (UD0500422)	4
Венгрия	KB 13 (UD0500249); Donia (UD0500250); YCB 1 (UD0500251); YCB 18 (UD0500252); YCB 15 (UD0501196)	5
Италия	Berì Comune (UD0500044); Без названия (UD0500046); Без названия (UD0500047); Без названия (UD0500048)	4

генетические расстояния Неи, а также создавали деревья методами ближайших соседей и максимальной экономии с помощью программы PHYLIP (<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>).

Статистическую достоверность образования кластеров в полученных деревьях оценивали при помощи бутстреп-анализа в программе PHYLIP. Оценка бутстреп-значений проведена в 1000 повторностях.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате амплификации ДНК сортов нута европейского происхождения с использованием праймеров к 13 микросателлитным локусам было выявлено 47 аллельных

вариантов. Число аллелей на локус варьировало от 1 до 7 (табл. 3). Три локуса – CaSTMS25, NCPGR41 и NCPGR55 – были мономорфными в выборке сортов нута по всем странам. По мономорфным микросателлитным локусам идентифицированы фрагменты размером 178, 155 и 204 п.н. соответственно. По остальным локусам выявлен полиморфизм (табл. 4). Минимальное число аллелей – 2 наблюдалось для локусов NCPGR51, NCPGR52, а максимальное – 7 для NCPGR81 и NCPGR90. В общей выборке сортов выявлены два уникальных аллельных варианта 100 п.н. (сорт Крымский 139 и UD0500445) и 180 п.н. (сорт Юбилей-

Таблица 2

Последовательность праймеров, фланкирующих микросателлитные локусы нута

Локус	Последовательность локуса	Последовательность праймеров
CaSTMS10	(AG) _n	F: ATAACAAAAAGATATCTCATCGACTA R: AACAAATATACAATAAATAACCAAGT
CaSTMS14	(TA) _n	F: TTGTGTTTCTCCTAATATTCTATTAGC R: GAATATGAATAACGTTACA
CaSTMS25	(CT) _n	F: TACACTACTGCTATTGATATGTGGT R: GACAATGCCTTTTTTCCTT
NCPGR21	(CT) _n	F: TCTACCTCGTTTTTCGTGCC R: TTGCTCCTTCAACAAAACCC
NCPGR41	(CT) _n (CA) _n	F: GGGAGGAGGATCAAAATTAC R: CAACTATAAAGAGGCATGTTCC
NCPGR50	(GA) _n	F: ATGATGGATTTTCGGAATGT R: AAAAATGCTGGAAGGAACTG
NCPGR51	(GA) _n	F: CATAATGCAAGGGCAATTAG R: CTCTTATCTTCATGTTGCCG
NCPGR52	(GA) _n aa(GA) _n	F: CAAGCTCTTTCAGAAATTTGC R: TACTGGTGGAAAAATGGATG
NCPGR55	(GA) _n	F: TCCATTGGATACATCACAGG R: GGGCAAATTCAGTATTTTGG
NCPGR57	(GT) _n (GA) _n (GT) _n	F: CGATGATATTCTCAGCGAAC R: TGTATGAAAACACTTTGACTCATT
NCPGR81	(AG) _n	F: CCGAATGTCCATAAATCAAT R: TGTTTACTGGGATAACTCC
NCPGR90	(GA) _n	F: TAGCATACCATTGTCAACCA R: AAGAGCACATACGGTTTTGT
NCPGR94	(CT) _n	F: GGTTTGATGTGTTCTTGGCT R: CCCTCAATTCCTCGATTTA

ный и UD0500259) для локусов CaSTMS14 и NCPGR21 соответственно. Обнаружено также 25 общих и 20 частых аллелей (табл. 3). Индекс полиморфности (PIC) без учета мономорфных локусов варьировал от 0,24 (локус NCPGR21) до 0,75 (локус NCPGR81)

(табл. 4). Следует отметить, что значения PIC по некоторым локусам (CaSTMS10, NCPGR51, NCPGR52) в сортах нута из отдельных стран и в общей выборке значительно отличались (табл. 4). Это обусловлено тем, что сорта нута из отдельных стран

Таблица 3

Разнообразие аллелей микросателлитных локусов в общей выборке сортов нута европейского происхождения

Локус	Количество аллельных вариантов, шт.	Редкие аллели ($\leq 1\%$)		Общие аллели ($\leq 20\%$)		Частые аллели ($> 20\%$)	
		Количество, шт.	Размер, п.н.	Количество, шт.	Размер, п.н.	Количество, шт.	Размер, п.н.
CaSTMS10	5	–	–	3	204, 210, 220	2	230, 240
CaSTMS14	6	1	100	3	110, 140, 150	2	120, 135
CaSTMS25	1	–	–	–	–	1	178
NCPGR 21	3	1	180	1	160	1	155
NCPGR41	1	–	–	–	–	1	264
NCPGR50	4	–	–	2	215, 240	2	220, 230
NCPGR51	2	–	–	–	–	2	203, 210
NCPGR52	2	–	–	1	260	1	245
NCPGR55	1	–	–	–	–	1	204
NCPGR57	3	–	–	2	210, 225	1	221
NCPGR81	7	–	–	5	180, 190, 200, 215, 240	2	222, 230
NCPGR90	7	–	–	5	155, 174, 186, 194, 240	2	200, 210
NCPGR94	5	–	–	3	170, 188, 195	2	160, 178
Всего	47	2	–	25	–	20	–

Таблица 4

Индекс полиморфности (PIC) микросателлитных локусов у изученных европейских сортов нута

Локус	Украина	Россия	Молдова	Испания	ДЕС	Общая выборка
CaSTMS10	0,45	0,35	0,24	0,37	0,60	0,60
CaSTMS14	0,56	0,75	0,48	0,08	0,47	0,54
CaSTMS25	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
NCPGR21	0,30	0,14	0,30	0,00	0,35	0,24
NCPGR41	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
NCPGR50	0,55	0,54	0,66	0,15	0,61	0,56
NCPGR51	0,14	0,38	0,38	0,28	0,00	0,37
NCPGR52	0,00	0,00	0,00	0,36	0,14	0,27
NCPGR55	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
NCPGR57	0,35	0,46	0,14	0,12	0,34	0,28
NCPGR81	0,69	0,79	0,73	0,56	0,78	0,75
NCPGR90	0,57	0,24	0,58	0,31	0,34	0,55
NCPGR94	0,36	0,57	0,24	0,51	0,51	0,57

характеризовались различным набором аллельных вариантов по этим локусам, а в общей выборке все аллельные варианты объединялись в общий массив данных, что приводило к более высоким значениям индекса полиморфности в общей выборке сортов нута по сравнению с группами сортообразцов из отдельных стран.

Среднее число аллельных вариантов на один локус в общей выборке сортов составило $3,62 \pm 2,22$. Генетическое разнообразие сортов нута по всем локусам, определяемое индексом генетического разнообразия Неи, составило $0,41 \pm 0,07$ (табл. 5).

Анализируя полиморфизм микросателлитных локусов в выборке сортов нута из разных европейских стран, можно отметить, что число аллелей в них отличалось незначительно. Этот показатель варьировал от 30 аллелей для сортов из Молдовы до 34 для России и ДЕС. Общее число аллелей как для сортов нута из Украины, так и из Испании составило 31. При этом индекс генетического разнообразия Неи изменялся от 0,25 до 0,38 для испанских и российских сортов соответственно, что свидетельствует о незначительной изменчивости микросателлитных локусов в выборке сортов из Испании (табл. 4).

Кроме того, следует отметить, что в этой выборке сортов идентифицирован внутрисортовой полиморфизм и гетерозиготные

генотипы по определенным микросателлитным локусам. В двух образцах из Испании (UD0500135 и UD0500134) по локусу NCPGR94 наблюдался внутрисортовой полиморфизм и были выявлены два аллельных варианта. Наличие нескольких аллелей по одному локусу в пределах одного образца, вероятно, можно объяснить гетерозиготностью сорта-родоначальника, который использовался в селекции изученных образцов. В образце UD0500135 идентифицированы только гомозиготные генотипы, в образце UD0500134 – как гомозиготы, так и гетерозиготы. Гетерозиготность в группе сортов из Испании по локусу NCPGR94 составила 0,0033, а в пересчете на все изученные локусы – 0,0016 (табл. 5).

В одном из российских сортов (Крымский 139) выявлены уникальные аллельные варианты по локусам CaSTMS14 и NCPGR21 (табл. 4). В остальных изученных группах сортов (Украина, Молдова, ДЕС, Испания) идентифицированы только общие и часто встречаемые аллельные варианты с преобладанием последних.

Наиболее полиморфным оказался локус NCPGR81 для всех сортов во всех изученных группах. Индекс полиморфности по этому локусу изменялся от 0,56 до 0,79 для выборки сортов из Испании и России соответственно, а в общей выборке этот показатель составил 0,75. Минимальное зна-

Таблица 5
Популяционная статистика полиморфизма микросателлитных локусов в сортах нута стран Европы

Страна	Индекс генетического разнообразия Неи (D)		Наблюдаемая гетерозиготность (H_z)		Среднее количество аллелей на локус (N_o)	
	D	SD	H_z	SD	N_o	SD
Украина	0,36	0,08	0,0000	0,0000	2,38	1,19
Россия	0,38	0,09	0,0000	0,0000	2,62	1,76
Молдова	0,34	0,08	0,0000	0,0000	2,31	1,32
Испания	0,25	0,07	0,0033	0,0023	2,46	1,66
ДЕС	0,37	0,08	0,0000	0,0000	2,62	1,56
Общая выборка	0,41	0,08	0,0016	0,0011	3,62	2,22

Примечание. SD – стандартное отклонение.

чение PIC в пределах всей выборки сортов наблюдали для локуса NCPRG21, тогда как наименьший показатель в группе сортов из Испании (0,08) выявлен по локусу CaSTMS14 (табл. 5).

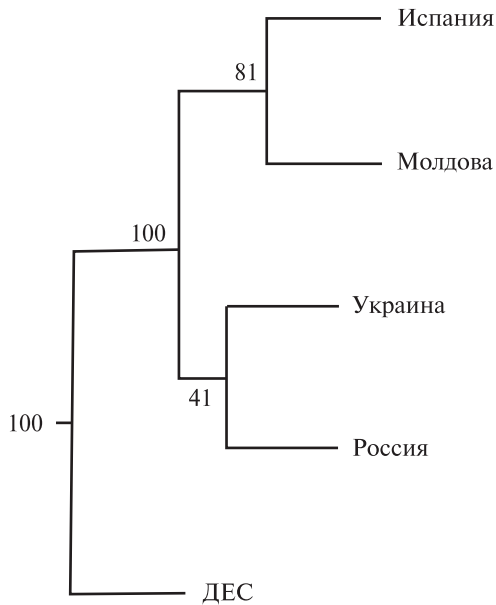
Для оценки дивергенции между изученными группами сортов определяли генетические расстояния Nei, на основе которых строили деревья методом присоединения ближайших соседей (NJ). В NJ анализе для построения укорененного дерева используется внешняя группа, которая выбирается субъективно, или же по умолчанию статистической программы как филогенетически наиболее отдаленный таксон от всех остальных изученных совокупностей организмов. Последовательное использование разных внешних групп с обязательным учетом их степени удаленности позволяет получить наиболее достоверную топологию дерева, отражающую вероятное родство между биологическими объектами [20, 21]. В настоящем исследовании для получения наиболее достоверной топологии дерева в качестве внешних групп поочередно использовали четыре различные группы сортов нута — России, Испании, ДЕС и Украины. Каждую группу сортов мы относили к внешней группе по различным критериям. Так, сорта из России отличались наибольшим полиморфизмом по сравнению с другими группами сортов; кроме того, в ней встречались уникальные аллельные варианты. В сортах из Испании наблюдалось наименьшее разнообразие по микросателлитным локусам, встречались также гетерогенные образцы. Сорта нута, объединенные в группу ДЕС, характеризовались значительным полиморфизмом, по видимому, связанным с объединением сортов из Италии, Венгрии и Чехии. Украинские сорта нута использовались в качестве внешней группы по умолчанию программы PHYLIP как первая стоящая в матрице расстояний группа.

Для оценки достоверности топологии каждого дерева, построенного с использованием

разных внешних групп, проводили бутстреп-анализ и создавали согласованные деревья. Анализ согласованных деревьев с разными внешними группами показал, что сорта из Испании и Молдовы кластеризовались в одну группу практически во всех согласованных деревьях с высокой степенью достоверности (бутстреп-поддержка 81 %). Вместе с тем группы сортов из России, Украины и ДЕС в разных согласованных деревьях попарно объединялись в кластеры с низкими значениями бутстреп-поддержки (41 %) (данные не приводятся). Строгий консенсус всех изученных согласованных деревьев был реализован исключением из анализа группы сортов ДЕС. При таком условии популяции сортов из Украины, России, Молдовы, Испании с высокой степенью достоверности объединялись в две группы: Испания — Молдова (бутстреп-поддержка 75 %), Украина — Россия (бутстреп-поддержка 100 %).

Для подтверждения достоверности объединения сортов из разных европейских стран в кластеры на основе метода присоединения ближайших соседей применили филогенетический метод максимальной экономии для построения другого дерева с использованием внешней группы сортов ДЕС. Полученная топология была полностью идентична дереву, построенному методом присоединения ближайших соседей. На основании этих данных в качестве наиболее достоверного дерева, отражающего дивергенцию между изученными группами сортов, была выбрана топология с внешней группой ДЕС (рисунок).

Таким образом, на основании результатов анализа изменчивости микросателлитных локусов у сортов нута из разных европейских стран выделены два наиболее родственных кластера — сорта из Молдовы и Испании, а также сорта из Украины и России. Объединенная группа сортов ДЕС не вошла ни в один из выделенных кластеров, но располагалась ближе всего к сортам из Украины и России. Полученное на основе кластерного анализа объединение сортов из



Дендрограмма, построенная на основе матрицы генетических расстояний Неи между выборками европейских сортов нута. В качестве внешней группы использована группа сортов ДЕС. В основании каждого кластера указаны бутстреп-значения, %

разных европейских стран, по нашему мнению, не полностью соответствует географическому месту происхождения, в котором велась селекция нута. Так, например, Молдова из всех изученных стран географически находится ближе всего к Украине, однако сорта нута из Молдовы объединялись в один кластер с сортами из Испании. Кроме того, другими авторами показано [10], что группирование сортов нута по разнообразию микросателлитных локусов редко связано с их географическим происхождением. Это объясняется по-видимому тем, что нут имеет один центр происхождения – Переднеазиатский, из которого он впоследствии распространился в другие географические регионы [22]. Именно в сортах нута из Индии выявлен высокий уровень полиморфизма микросателлитных локусов с максимальным числом уникальных аллельных вариантов [10]. Вероятно, такое объединение изученных сортов нута в кластеры отражает особенности селекции в этих странах, например, использование в селекционном процессе

одного и того же исходного материала. Так, в родословных украинских сортов присутствуют практически все изученные в настоящем исследовании российские сорта.

Обсуждая генетическое разнообразие европейских сортов нута, можно отметить, что в целом они отличались незначительным уровнем полиморфизма ($D = 0,41$). Наиболее полиморфными оказались группы сортов из России и объединенная группа ДЕС. Индекс генетического разнообразия для этих групп сортов составил 0,38 и 0,37 соответственно. Следует отметить, что этот индекс для молдавских и украинских сортов приближался к упомянутым группам сортов – 0,34 и 0,36 соответственно. Исключение составили испанские сорта ($D = 0,25$) (табл. 5).

Разнообразие аллелей микросателлитных локусов в группе сортов ДЕС обусловлено преобладанием определенных аллельных вариантов, характерных для стран Италии, Чехии и Венгрии. В построенном согласованном дереве эта группа сортов находилась ближе всего к кластеру Украина – Россия. В сортах из России в отличие от объединенной группы сортов нута ДЕС значительный полиморфизм микросателлитных локусов обусловлен, по всей видимости, использованием при их создании разнообразного генетического материала. Например известно, что на Краснокутской опытной станции (РФ) при создании сортов нута, в том числе и изученных нами, начиная с 1934 г. и до настоящего времени широко вовлекаются коллекционные образцы Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР) из разных стран мира [23].

Кластер сортов Молдова – Испания характеризовался наименьшим полиморфизмом микросателлитных локусов в изученной выборке сортов нута. Предполагается, что все изученные сорта из этих стран имеют общее происхождение, что требует детального анализа их родословных.

Таким образом, в результате исследования изменчивости микросателлитных локусов европейских сортов нута выявлен незна-

чительный их полиморфизм, связанный, по-видимому, с узкой генетической основой этих сортов. Так, при создании практически всех изученных украинских сортов селекционерами были использованы только российские и украинские сорта. Выявлена наиболее полиморфная группа сортов из России, разнообразие которой объясняется привлечением в селекцию образцов из мировой коллекции ВИР. Группирование в разные кластеры сортов нута из европейских стран вероятнее всего связано с особенностями селекционного процесса в этих странах.

Авторы выражают благодарность канд. с.-х. наук, старшему научному сотруднику О.Н. Безуглой за любезно предоставленные образцы нута из НЦГРРУ.

G.E. Akinina, V.N. Popov

POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE LOCI OF EUROPEAN CHICKPEA CULTIVARS

Polymorphism of 13 microsatellite loci in 61 chickpea varieties was studied. The 47 alleles were detected. Three loci were monomorphic, the other ones showed polymorphism. Genetic diversity of chickpea varieties in all loci was 0,41 according to Nei polymorphism index (D). It was concluded that chickpea varieties from Europe had insignificant microsatellite loci diversity. The most polymorphic group was chickpea varieties from Russia (D = 0,38), the least polymorphic – Spanish varieties (D = 0,25). Consensus tree representing the most credible divergence of Europe chickpea varieties was constructed. The possible causes of clustering chickpea varieties in a common cluster are discussed.

G.E. Akinina, V.M. Popov

ПОЛІМОРФІЗМ МІКРОСАТЕЛІТНИХ ЛОКУСІВ У СОРТАХ НУТА ЄВРОПЕЙСЬКОГО ПОХОДЖЕННЯ

Вивчено поліморфізм 61 сорту нута європейського походження за 13 мікросателітними локусами. Виявлено 47 алельних варіантів. Три локуси були мономорфними, інші виявляли поліморфізм. Генетичне різноманіття сортів нута за всіма локусами, що визначалось індексом генетичного різноманіття Nei (D), становило 0,41. Зроблено висновки про незначне різноманіття сортів нута країн Європи за мікросателітними локусами. Найбільш поліморфною групою сортів виявилися сорти нута з Росії (D = 0,38), а найменш полі-

морфною – іспанські сорти (D = 0,25). Побудовано узгоджене дерево, що відображає найвірогіднішу дивергенцію сортів європейського походження, обговорюються можливі причини об'єднання сортів нута з різних країн в один кластер.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Jomová K., Benková M., Kraic J. Enrichment of chickpea genetic resources collection monitored by microsatellites // Czech J. Genet. Plant Breed. – 2009. – 45, № 1. – P. 11–17.
2. Соколов В.М., Сичкар В.І. Стан науково-дослідних робіт з селекції зернобобових культур в Україні // Зб. наук. пр. СГП – НЦНС. – Одеса. – 2010. – Вип. 15 (55). – С. 7–14.
3. Бушулян О.В., Сичкар В.І. НУТ: генетика, селекція, насінництво, технологія вирощування. – Одеса : СГП – НЦНС, 2009. – 248 с.
4. Рябчун В.К., Богуславський Р.Л. Проблеми та перспективи збереження генофонду рослин в Україні. – Харків, 2002. – 40 с.
5. Upadhyaya H., Dwivedi S., Baum M., Varshney R., Udupa S. et al. Genetic structure, diversity, and allelic richness in composite collection and reference set in chickpea (*Cicer arietinum* L.) // BMC Plant Biol. – 2008. – 8. – P. 106.
6. Кожухова Н.Э., Сиволан Ю.М. Идентификация и регистрация генотипов кукурузы при помощи молекулярных маркеров // Генетика. – 2004. – 40, № 1. – С. 59–66.
7. Саналатий А.В., Солоденко А.Е., Сиволан Ю.М. Идентификация генотипов подсолнечника украинской селекции при помощи SSRP-анализа // Цитология и генетика. – 2006. – 40, № 4. – С. 37–43.
8. Чеботарь С.В., Сиволан Ю.М. Дифференциация, идентификация и создание базы данных сортов *T. aestivum* L. украинской селекции на основе STMS-анализа // Цитология и генетика. – 2001. – 35, № 6. – С. 18–27.
9. Чесноков Ю.В. Молекулярные маркеры и управление генетическими ресурсами растений // Идентифицированный генофонд растений и селекция. – СПб.: ВИР, 2005. – С. 240–250.
10. Sethy N., Edwards B., Bhatia S. Development of microsatellite markers and analysis of intraspecific genetic variability in chickpea (*Cicer arietinum* L.) // Theor. Appl. Genet. – 2006. – 112. – P. 1416–1428.
11. Ahmad F., Gaur P.M., Slinkard A.E. Isozyme polymorphism and phylogenetic interpretations in the genus *Cicer* L. // Theor. Appl. Genet. – 1992. – 83. – P. 620–627.
12. Ghaffoor A., Gulbaaz F.N., Afzal M., Ashraf M., Arshad M. Inter-relationship between SDS-PAGE

- markers and agronomic traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.) // Pakistan J. Bot. – 2003. – **35**, № 4. – P. 613–624.
13. Udupa S.M., Sharma A., Sharma R.P., Pai R.A. Narrow genetic variability in *Cicer arietinum* L. as revealed by RFLP analysis // J. Plant Biochem. Biotech. – 1993. – **2**. – P. 83–86.
 14. Sant V.J., Patankar A.G., Sarode N.D., Mhase L.B., Sainani M.N. et al. Potential of DNA markers in detecting divergence and analysis in heterosis in Indian elite chickpea cultivars // Theor. Appl. Genet. – 1999. – **98**. – P. 1217–1225.
 15. Iruela M., Rubio J., Cubero J.I., Gil J., Millan T. Phylogenetic analysis in the genus *Cicer* and cultivated chickpea using RAPD and ISSR markers // Theor. Appl. Genet. – 2002. – **104**. – P. 643–651.
 16. Huttel B., Winter P., Weising K., Choumane W., Weigand F., Kahl G. Sequence-tagged microsatellite site markers for chickpea (*Cicer arietinum* L.) // Genome. – 1999. – **42**. – P. 210–217.
 17. Ausubel F.M., Brent R., Kingston R.E., Moor D.D., Seidman J.G. et al. Current protocols in molecular biology. – New York : John Wiley & Sons, 1987. – P. 4.3.1–4.3.3.
 18. Brody J.R., Kern S.E. Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis // BioTechniques. – 2004. – **36**. – P. 214–216.
 19. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. – М.: Наука, 1991. – 269 с.
 20. Банникова А.А. Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих // Журн. общ. биологии. – 2004. – **65**, № 4. – С. 278–305.
 21. Schneider A., Cannarozzi G.M. Support patterns from different outgroups provide a strong phylogenetic signal // Mol. Biol. Evol. – 2009. – **26**, № 6. – P. 1259–1272.
 22. Abbo S., Shtienberg D., Lichtenzweig J., Lev-Yadun S., Gopher A. The chickpea, summer cropping, and a new model for pulse domestication in the ancient near east // Q Rev Biol. – 2003. – **78**. – P. 435–448.
 23. Германцева Н.И., Калинина Г.В., Селезнева Т.В. Итоги работ с культурой нута в засушливом Заповжье // Проблемы аридизации Юго-Востока Европейской части России : Материалы Международ. науч.-практ. конф., посвященной 100-летию Краснокутской селекц.-опыт. станции. – Саратов, 2009. – С. 81–88.

Поступила 27.12.10