

А.Ф. БРИК, Р.Н. КАЛЕНДАРЬ,
О.Р. СТРАТУЛА, Ю.М. СИВОЛАП

Южный биотехнологический центр в растениеводстве
Украина 65036, г. Одесса-36, ул. Овидиопольская дорога, 3
e-mail: yuri@genome.intes.odessa.ua

IRAP- И REMAP-АНАЛИЗ СОРТОВ ЯЧМЕНЯ ОДЕССКОЙ СЕЛЕКЦИИ



Для детальной характеристики, дифференциации и идентификации сортов сельскохозяйственных растений наряду с монолокусным SSR-анализом перспективны полилокусные биаллельные системы ПЦР-анализа. В геноме растений известны, как наиболее переменные, участки микросателлитов и LTR ретротранспозонов, которые могут быть использованы в ПЦР-анализе в виде IRAP и REMAP. Разработаны условия IRAP- и REMAP-анализа меж- и внутрисортного полиморфизма ячменя. Проведен подробный анализ генетических взаимоотношений и внутрисортного полиморфизма 27 сортов ячменя одесской селекции. Приводятся детальные формулы генотипов, которые отражают внутрисортный полиморфизм и позволяют проследить изменения структуры сорта в процессе семеноводства.

© А.Ф. БРИК, Р.Н. КАЛЕНДАРЬ, О.Р. СТРАТУЛА,
Ю.М. СИВОЛАП, 2006

Введение. Одним из важных аспектов генетики и практической селекции растений является детальная характеристика улучшаемого материала. Для решения этой задачи внедряются новые технологии, которые базируются на анализе полиморфизма ДНК [1].

Созданные в результате селекции сорта растений сочетают уникальные комбинации аллелей генов, обеспечивающих адаптацию к условиям жизни и необходимый уровень развития ценных технологических признаков. Особенности набора аллелей генов и, следовательно, последовательностей нуклеотидов ДНК по сути представляют «генетический паспорт» сорта [2]. Необходимым является создание надежной системы молекулярно-генетических маркеров, выявляющих и отражающих эти особенности. Маркерные системы, основанные на полиморфизме фрагментов ДНК, в значительной степени соответствуют предъявляемым требованиям. Они позволяют проанализировать на молекулярном уровне генетические особенности представителей данного вида, провести каталогизацию источников зародышевой плазмы, обеспечить точное описание генетического материала, а также надежную защиту авторских прав селекционеров и селекционных организаций. Актуальным является изучение особенностей сортов ячменя Юга Украины и создание информационной базы данных, отражающей молекулярно-генетические характеристики источников, используемых в селекционном процессе.

На протяжении последнего десятилетия перспективным направлением изучения генетических источников ячменя является ПЦР-анализ. Нами разработан оригинальный подход идентификации и регистрации генотипов ячменя с участием монолокусной системы с использованием микросателлитов [3]. При помощи SSRP-анализа удается уникально дифференцировать и идентифицировать сорта ячменя. В то же время для установления генетических взаимоотношений между сортами может быть недостаточно анализа 15 локусов. Кроме того, результаты анализа микросателлитных участков не всегда выявляют внутрисортную гетерогенность сортов ячменя.

Для распределения сортов в зависимости от генетической близости применяют полилокусные маркеры типа RAPD. Проблема воспроизводимости результатов RAPD-анализа

побудила к разработке новых полилокусных маркеров, позволяющих стабильно повторять результаты одновременного анализа десятков локусов. Особый интерес вызывают относительно недавно разработанные полилокусные системы: IRAP, где используются праймеры из LTR — длинных концевых фрагментов ретротранспозонов, и REMAP, где один праймер — микросателлитный повтор, а другой — участок из длинных концевых фрагментов ретротранспозона [4—7]. Жесткий критерий реакции позволяет в обоих случаях получать хорошо воспроизводимые результаты.

Задачей настоящего исследования являлось: 1) изучить возможности использования IRAP и REMAP маркеров для анализа генетического разнообразия сортов ячменя одесской селекции; 2) выявить разрешающую способность IRAP и REMAP маркеров при определении меж- и внутрисортного полиморфизма у сортов ярового и озимого ячменя; 3) провести подробный анализ генетических взаимоотношений сортов ячменя одесской селекции; 4) создать на базе полученных данных подробный каталог исследованных сортов ячменя, где приводятся формулы, отражающие аллельное состояние фиксированных локусов.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили 27 сортов ячменя одесской селекции, любезно предоставленные отделом селекции ячменя СГИ: 20 яровых и 7 озимых сортов ячменя (табл. 1).

ДНК выделяли из пятидневных этиолированных проростков с помощью цетавлона В (СТАВ).

Детекцию полиморфизма проводили с помощью праймеров из различных LTR-последовательностей ретротранспозонов ячменя, а также ISSR-праймеров двумя ПЦП-методами — IRAP и REMAP. LTR- и ISSR-праймеры, использованные в работе, представлены в табл. 2 и 3 соответственно.

Реакционная смесь для полимеразной цепной реакции с IRAP-праймерами объемом 20 мкл содержала: 50 мМ KCl, 20 мМ Tris-HCl pH 8,4 (25 °C), 3 мМ MgCl₂, 0,01 % Tween 20, 5 % глицерин, по 0,15 мМ каждого dNTP, 0,2 мкМ праймера, 20 нг ДНК и 1—2 единицы Taq-полимеразы.

Для полимеразной цепной реакции применяли следующий температурный режим: на-

Таблица 1

Сорта, исследованные в работе	
Яровые	Озимые
Адапт	Манас
Галактик	Одесский 165
Галатея	Одесский 167
Гамбринус	Основа
Гетьман	Росава
Дерибас	Тайна
Эдем	Тамань
Зоряный	
Незалежный	
Оболонь	
Одесский 115	
Одесский 131	
Одесский 151	
Паллидум 107	
Переможный	
Пивденный	
Прерия	
Престиж	
Рось	
Сталкер	

Таблица 2

LTR-праймеры, отобранные для проведения ПЦП

Праймер	Количество			Уровень полиморфизма, %
	ПЦП-локусов	полиморфных ПЦП-локусов	выявленных генотипов	
NIKITA 1-57+92714	10	5	12	50,0
NIKITA 1-57+E 2082	13	8	21	61,5
NIKITA 1-57+91673	10	4	12	40,0
92714 + E 2095	12	6	17	50,0
E 2082	15	11	24	73,3
E 2082 + 91673	19	9	19	47,4
C 0945	16	11	25	68,8
E 2095 + C 0946	26	17	27	65,4
91673 + E 1814	22	13	23	59,1

Таблица 3

ISSR-праймеры, отобранные для проведения ПЦП

Праймер	Последовательность праймера
R 2	(GA) ₅ C
R 8	(AGC) ₆ G
R 9	(AG) ₅ C

Таблица 4

Характеристика детектированных IRAP-локусов

Праймер	Последовательность праймера	Ретро-транспозон
NIKITA1-57	CGCATTGTTCAAGCCTAAACC	NIKITA
92714	ATCATTGCCTCTAGGGCATAATTC	BARE I
E 0229	ACGTCGGCATCGGGCTGTAC	SUKKULA
C 2430	TTGTTCCACCCACCGTCTACTTGC	SABRINA
E 2082	GGTTCGCATATTGGGCGTGAC	SUKKULA
E 2095	GGACCGCATTCTTGGTCTGTTAC	SUKKULA
C 0945	GCAAGCTTCCGTTTCCGC	SABRINA
91673	TGTGACAGCCCGATGCCGACGTTCC	SUKKULA
C 0946	TTCCGTTTGGACTCCGTTCC	SABRINA
E 1814	TTCCCATGCGACGTTCCCAAC	BARE I

чальная денатурация — 1,5 мин при 94 °С, денатурация — 30 с при 94 °С, отжиг — 40 с при 60 °С, элонгация — 1 мин при 72 °С, заключительная элонгация — 10 мин при 72 °С. Проводили 35 циклов амплификации. Для амплификации ДНК использовали приборы «Терцик» («ДНК-технология», Россия).

Для тестирования продуктов амплификации использовали 2%-ные агарозные гели с последующим окрашиванием бромистым этидием и фотографированием в УФ-свете на фотопленку «Микрат-300» (Россия). Документирование профилей ДНК на гелях проводили с помощью системы видеодокументации «Image Master VDS» («Amersham Pharmacia Biotech», Австрия). Фотографировали окрашенные гели цифровой видеокамерой. С помощью компьютерного обеспечения LISKAP цифровое видеоизображение продуктов разделения в геле переносили в компьютер. Далее, используя компьютерную программу «Image Master 1D Elite v3.1», вычисляли размеры амплифицированных фрагментов.

Степень подобия анализируемых генотипов определяли, используя коэффициент SM (simple matching). Дендрограммы, определяющие уровень феногенетических взаимоотношений между генотипами, строили, используя кластерный анализ на основе невзвешенного парно-группового метода с арифметическим усреднением UPGMA. Установление генетических дистанций согласно коэффициенту SM и кластерный анализ с графическим построением дендрограмм осуществляли с помощью компьютерной программы TREES.

При составлении генетической формулы по данным REMAP-анализа буквой латинского алфавита обозначили праймер или пару праймеров (табл. 9), а нижний индекс — молекулярную массу детектированного локуса.

Результаты исследований и их обсуждение. Первым этапом исследования стал подбор праймеров. Для дизайна праймеров использовали компьютерную программу FastPCR, контролирующую стабильность и эффективность праймера.

В процессе подбора обращали внимание на консервативные участки ретротранспозонов, так как праймеры к этим участкам позволяют получить продукты амплификации из большего числа копий геномной ДНК. Использование праймеров к гетерогенным участкам ретротранспозонов снижает вероятность их отжига на геномной ДНК, тем самым уменьшая количество продуктов амплификации. Поэтому для выявления консервативных участков использовали выравнивание нескольких последовательностей ретротранспозонов.

Из 55 возможных комбинаций IRAP-праймеров для проведения исследования отобрано девять наиболее информативных вариантов (табл. 4). В результате анализа 27 сортов ячменя с помощью IRAP-праймеров детектировано 143 продукта амплификации. Размер ампликонов варьировал от 150 до 2000 п.н. Количество полиморфных ПЦР-локусов — 84, что достаточно для дифференциации исследуемых сортов. Уровень полиморфизма варьировал от 40,0 до 73,3 % в зависимости от праймера (или пары праймеров). Кроме уровня полиморфизма, важным показателем информативности того или иного праймера является количество детектируемых генотипов. Значение этого показателя варьировало от 12 до 27.

Продукты амплификации ретротранспозонов IRAP и REMAP ПЦР-методами имеют доминантную природу наследования, которая связана с точечными мутациями в участках ДНК, комплементарных праймерам. Кодоминантные маркеры образуются, когда мутации (вставки или делеции) происходят в последовательностях между праймерами, но так как последние редки, кодоминантные маркеры наблюдаются здесь нечасто.

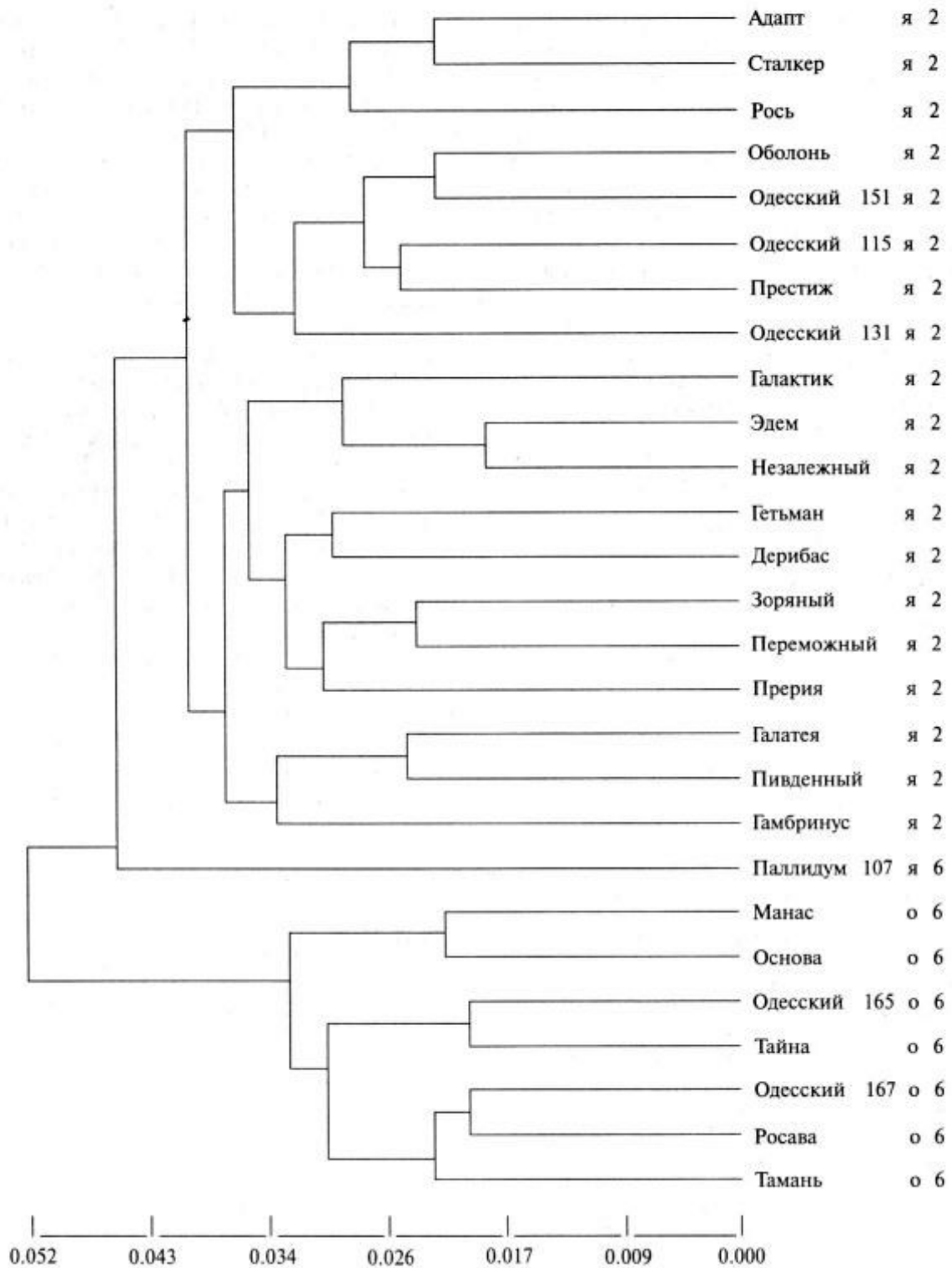


Рис. 1. Дендрограмма феногенетических взаимоотношений сортов ячменя одесской селекции (по данным IRAP-анализа): я — яровые сорта; о — озимые сорта; 2 — двурядные сорта; 6 — шестирядные сорта

При исследовании молекулярно-генетического распределения аллелей у данных сортов выявлено, что комбинация праймеров NIKITA 1-57 + 92714 детектирует фрагмент длиной 260 п.н., встречающийся у всех озимых сортов и отсутствующий у яровых, за исключением сортов Гетьман и Незалежный. Ампликон размером 273 п.н., выявляемый с помощью сочетания праймеров E 2082 + 91673, характерен для всех озимых сортов и одного ярового

(Паллидум 107). Детектированный с помощью пары праймеров E 2095 + C 0946 ПЦР-продукт длиной 251 п.н. встречается у всех озимых сортов и только у трех яровых (Паллидум 107, Пивденный и Прерия).

Дендрограмма фенотипических взаимоотношений исследованных сортов ячменя состоит из двух кластеров (рис. 1). В первом кластере расположены яровые сорта, во втором — озимые. Первый кластер состоит из 19 сортов двурядных ячменей и отдельной ветви шестирядного сорта Паллидум 107.

Внутрисортовой анализ (с помощью шести пар IRAP-праймеров) выявил неоднородность 11 сортов ячменя (табл. 5). Количество полиморфных ампликонов — 1—2, а детектированных генотипов внутри сорта — 2—4. У пяти сортов (Переможный, Гетьман, Прерия, Одесский 115 и Росава) полиморфизм детектирован с помощью двух пар праймеров, у остальных шести сортов (Галатя, Незалежный, Пивденный, Паллидум, Рось и Манас) — с помощью одной пары праймеров.

Проведен подбор REMAP-праймеров для детекции меж- и внутрисортowego полиморфизма исследуемых сортов ячменя (табл. 6). Из 122 комбинаций LTR- и ISSR-праймеров отобраны 9, которые выявляют изменчивость профилей ДНК анализируемых сортов. В ре-

Таблица 5

Молекулярно-генетический анализ внутрисортowego полиморфизма ячменя селекции СГИ с помощью IRAP-метода

Праймер	Количество			Уровень полиморфизма, %
	ПЦР-локусов	полиморфных ПЦР-локусов	выявленных генотипов	
NIKITA 1-57 + R 2	20	15	23	75,0
C 2430 + R 2	14	12	21	85,7
91673 + R 2	24	17	25	70,8
NIKITA 1-57 + R 8	15	10	25	66,7
E 0229 + R 8	21	15	23	71,4
C 0945 + R 8	12	7	16	58,3
92714 + R 9	16	7	21	43,8
E 0229 + R 9	18	11	25	61,1
91673 + R 9	16	11	25	68,8

Таблица 6

Характеристика детектированных REMAP-локусов

Сорт	Праймер/пара праймеров	Количество полиморфных локусов	Размер фрагментов, п.н.	Количество генотипов
Переможный	NIKITA 1-57 + 92714	1	410	2
	E 2082	1	576	2
Гетьман	91673 + E 1814	2	484; 432	4
	NIKITA 1-57 + 92714	1	260	2
Прерия	E 2082	2	958; 734	4
	91673 + E 1814	1	284	2
Одесский 115	E 2082	1	958	2
	E 2095 + C 0946	2	293; 265	4
Росава	NIKITA 1-57 + 92714	1	260	2
	NIKITA 1-57 + 91673	1	416	2
Галатя	E 2095 + C 0946	1	327	2
Незалежный	E 2082 + 91673	1	386	2
Пивденный	E 2095 + C 0946	2	265; 251	4
Паллидум 107	NIKITA 1-57 + 91673	1	416	2
Рось	E 2095 + C 0946	1	470	2

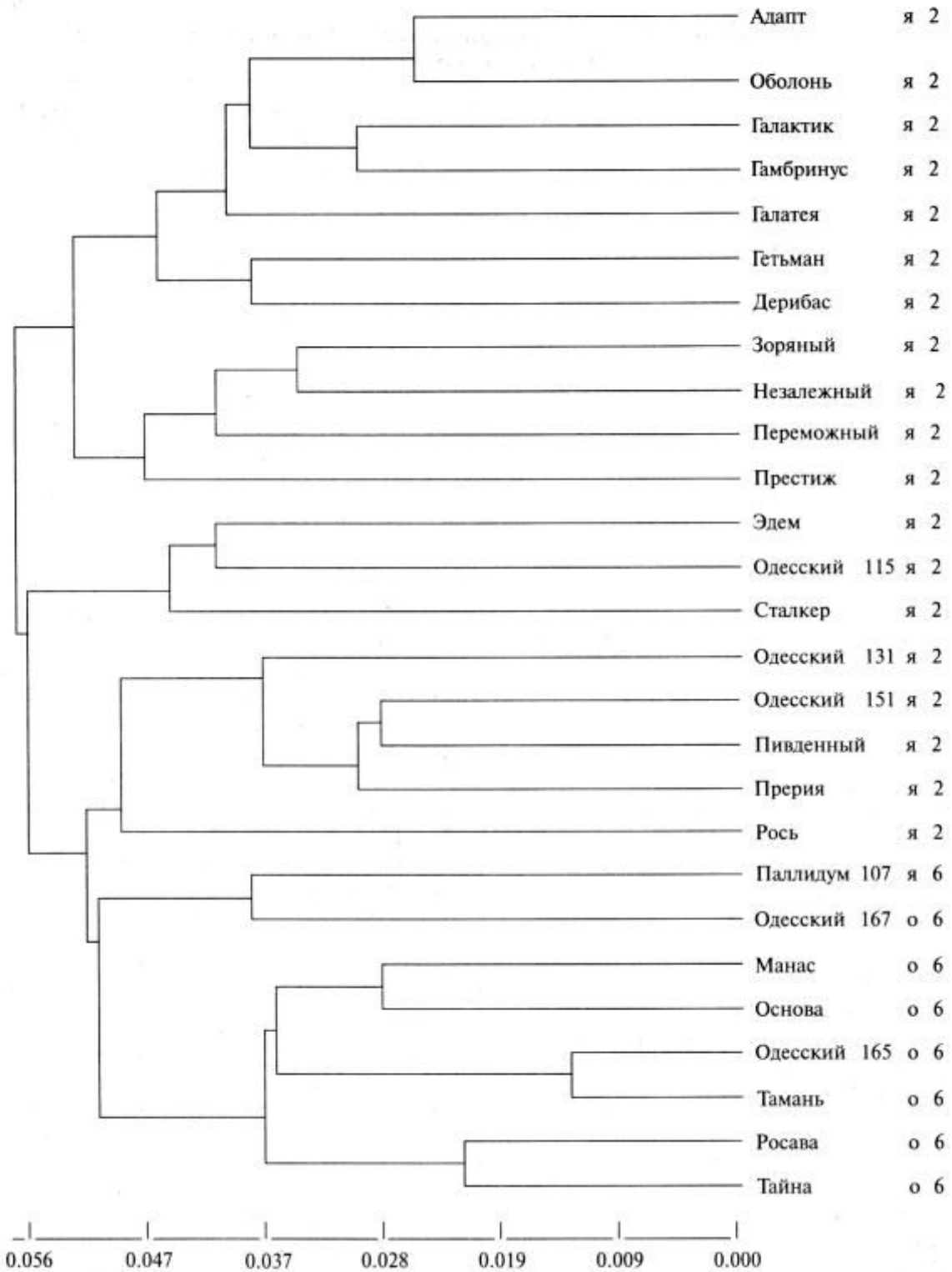


Рис. 2. Дендрограмма феногенетических взаимоотношений сортов ячменя одесской селекции (по данным REMAP-анализа): я — яровые сорта; о — озимые сорта; 2 — двурядные сорта; 6 — шестирядные сорта

Таблица 7

Молекулярно-генетический анализ внутрисортного полиморфизма ячменя селекции СГИ с помощью REMAP-метода

Сорт	Праймер/пара праймеров	Количество полиморфных локусов	Размер фрагментов, п.н.	Количество генотипов
Переможный	NIKITA 1-57 + R 8	1	347	2
	C2430 + R 2	1	360	2
	91673 + R 2	2	285; 259	4
Прерия	NIKITA 1-57 + R 2	2	607; 550	4
	E0229 + R 8	1	277	2
	91673 + R 2	2	890; 259	4
Адапт	NIKITA 1-57 + R 8	1	347	2
	E0229 + R 8	2	277; 232	4
Росава	E0229 + R 8	3	555; 486; 232	6
	C2430 + R 2	1	798	2
Галактик	E0229 + R 8	1	277	2
Пивденный	E0229 + R 8	2	232; 200	4
Рось	E0229 + R 8	2	555; 486	4
Тайна	C2430 + R 2	1	798	2

Таблица 8

Сравнительная характеристика IRAP и REMAP ПЦР-анализа ячменя

Метод	Количество			Уровень полиморфизма, %
	пар праймеров	ПЦР-локусов	полиморфных ПЦР-локусов	
IRAP	9	143	84	58,7
REMAP	9	156	105	67,4

Таблица 9

Праймеры, использованные для REMAP регистрации сортов

Праймер	Код
NIKITA 1-57 + R 2	A
C 2430 + R 2	B
91673 + R 2	C
NIKITA 1-57 + R 8	D
E 0229 + R 8	E
C 0945 + R 8	F
92714 + R 9	G
E 0229 + R 9	H
91673 + R 9	I

зультате анализа 27 сортов ячменя с помощью девяти пар праймеров детектировано 156 продуктов амплификации. Размер ампликонов варьировал от 200 до 2000 п.н. Количество полиморфных ПЦР-локусов — 105. Уровень полиморфизма варьировал от 43,8 до 85,7 % в зависимости от пары праймеров. Количество генотипов, детектируемых той или иной парой праймеров, варьировало от 16 до 25.

При исследовании молекулярно-генетического разнообразия между данными сортами выявлено, что продукт амплификации длиной 503 п.н., детектированный с помощью пары праймеров NIKITA 1-57 + R 8, встречается у яровых сортов за исключением сортов Эдем, Незалежный и Рось и отсутствует у всех озимых, кроме сорта Росава. Ампликон размером 924 п.н., выявленный сочетанием праймеров C 0945 + R 8, обнаружен у яровых сортов и отсутствует у озимых, кроме сорта Основа.

Дендрограмма фенотипических взаимоотношений исследованных сортов ячменя состоит из кластеров, содержащих двурядные сорта и шестьюрядные. Последний кластер представлен семью озимыми ячменями и одним яровым шестьюрядным сортом Паллидум 107. Во всех остальных кластерах сгруппированы яровые сорта ячменя (рис. 2).

Молекулярно-генетическая характеристика сортов ячменя по данным REMAP-анализа

1. *Адапт* A₇₉₇ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ C₁₀₈₃ C₁₀₄₅ C₈₉₀ C₈₅₃ C₆₆₀ C₅₇₂ C₅₃₆ C₄₇₉ C₄₃₅ C₄₀₃ C₃₇₅ C₂₈₅
 C₂₅₉ D₇₈₉ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₃₉₀ D₃₄₇ D₃₃₀ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ F₁₀₅₈ F₉₂₄ G₉₇₂ G₄₈₈ G₃₉₆ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀
 H₁₂₈₁ H₁₂₄₅ H₈₂₆ H₆₂₅ H₂₈₂ I₄₆₅ I₄₀₁ I₂₅₀

2. *Галактик* A₁₁₂₆ A₉₇₉ A₇₉₇ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₃₃₀ C₁₀₈₃ C₁₀₄₅ C₈₉₀ C₈₅₃ C₆₆₀ C₅₇₂ C₄₇₉ C₄₃₅ C₄₀₃ C₂₉₄
 C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₈₉ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₉₀ D₃₃₀ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ F₁₂₇₈ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₅₉₄ G₉₇₂ G₃₉₆ G₃₄₁ H₁₃₂₉
 H₁₃₀₀ H₈₆₉ H₈₂₆ H₈₀₂ H₆₇₈ H₆₂₅ H₃₀₅ I₁₂₀₇ I₈₅₇ I₅₅₆ I₄₂₈ I₄₀₁ I₂₅₀

3. *Галатея* A₁₇₂₈ A₁₄₉₀ A₉₇₉ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₀₂ B₄₇₃ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₁₀₄₅ C₉₉₁ C₈₉₀ C₅₇₂ C₅₃₆ C₄₇₉ C₄₃₅ C₂₈₅
 C₂₅₉ D₇₅₁ D₇₄₁ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₉₀ D₃₄₇ D₃₃₀ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ F₁₂₇₈ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₇₁₄ F₃₉₄ F₄₁₈ F₂₉₄ G₉₇₂ G₄₈₈
 G₃₉₆ G₃₄₁ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₁₂₄₅ H₈₆₉ H₈₂₆ H₆₂₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₈₅₇ I₄₆₅ I₄₂₈ I₂₅₀

4. *Гамбринус* A₇₉₇ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₃₃₀ B₂₄₂ C₁₀₈₃ C₁₀₄₅ C₈₉₀ C₈₅₃ C₆₆₀ C₅₇₂ C₅₃₆ C₄₇₉ C₄₃₅ C₄₀₃ C₃₇₅ C₂₉₄
 C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₅₁ D₇₄₁ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₉₀ D₃₄₇ D₃₃₀ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₁₂₇₈ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₇₁₄ F₅₉₄
 F₄₁₈ G₉₇₂ G₃₈₄ G₄₈₈ G₃₉₆ G₃₄₁ G₂₄₉ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₈₆₉ H₈₂₆ H₈₀₂ H₆₇₈ H₆₂₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₅₅₆ I₄₂₈ I₄₀₁ I₂₈₅ I₂₅₀

5. *Гетьман* A₁₈₉₁ A₁₇₂₈ A₁₂₁₃ A₁₁₂₆ A₉₇₉ A₇₉₇ A₇₅₈ A₆₀₇ A₅₅₀ A₂₂₁ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ C₁₀₈₃ C₁₀₄₅ C₈₉₀ C₈₅₃ C₆₆₀
 C₆₄₉ C₅₇₂ C₄₇₉ C₄₃₅ C₄₀₃ C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₉₀ D₃₄₇ D₃₃₀ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₁₃₉ F₁₂₇₈ F₁₀₅₈
 F₉₂₄ F₄₁₈ G₄₈₈ G₃₉₆ G₃₄₁ G₂₄₉ H₈₂₆ H₆₇₈ H₆₂₅ H₂₈₂ I₄₆₅ I₄₀₁ I₂₅₀

6. *Дерибас* A₁₈₉₁ A₁₇₂₈ A₁₄₉₀ A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₁₁₂₆ A₉₇₉ A₇₉₇ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ C₄₀₃ D₇₅₁
 D₇₄₁ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₉₀ D₃₃₀ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ F₁₂₇₈ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₄₁₈ G₉₇₂ G₅₈₄ G₅₁₈ G₄₈₈ G₃₉₆ G₃₄₁ G₂₄₉ H₁₃₂₉
 H₁₃₀₀ H₁₂₄₅ H₈₂₆ H₆₇₈ H₆₂₅ H₂₈₂ I₄₆₅ I₂₈₅ I₂₅₀

7. *Эдем* A₅₅₀ A₃₂₁ B₁₃₀₀ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₇₁₄ B₅₈₆ C₁₁₅₀ C₈₅₃ C₆₆₀ C₅₇₂ C₄₀₃ C₂₈₅ D₇₁₆ D₄₈₈ D₃₉₀ E₁₁₈₂ E₁₀₀₉ E₆₄₄ E₄₈₆ E₂₇₇ E₂₃₂ F₉₂₄
 F₄₁₈ G₉₇₂ G₄₈₈ G₃₉₆ G₃₄₁ G₂₄₉ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₁₂₄₅ H₆₇₈ H₃₀₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₈₅₇ I₅₅₆ I₄₆₅ I₄₂₈ I₄₀₁ I₂₅₀

8. *Зоряный* A₁₂₁₃ A₇₉₇ A₇₅₈ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ B₃₃₀ C₁₀₈₃ C₁₀₄₅ C₈₅₃ C₆₆₀ C₆₄₉ C₅₇₂ C₄₇₉ C₄₃₅ C₄₀₃ C₂₉₄
 C₂₅₉ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₄₇ D₃₃₀ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₂₃₂ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₅₉₄ F₄₁₈ F₂₉₄ G₉₇₂ G₃₉₆ G₃₄₁ G₂₄₉
 H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₈₂₆ H₃₀₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₀₄₂ I₈₅₇ I₅₅₆ I₄₆₅ I₄₂₈ I₄₀₁ I₃₁₁ I₂₈₅ I₂₅₀

9. *Незалежный* A₇₉₇ B₁₀₂₃ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₃₈₆ B₄₇₃ B₃₃₀ C₆₄₉ C₄₀₃ C₂₅₉ D₇₄₁ D₄₈₈ D₃₄₇ D₃₃₀ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁
 E₅₅₅ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₁₃₉ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₅₉₄ F₄₁₈ F₂₉₄ G₃₉₆ G₃₄₁ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₈₆₉ H₈₂₆ H₆₇₈ H₆₂₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₈₅₇ I₄₆₅ I₄₂₈ I₄₀₁ I₂₅₀

10. *Оболонь* A₇₉₇ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₃₈₆ B₄₇₃ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₁₀₄₅ C₉₉₁ C₈₉₀ C₆₆₀ C₅₇₂ C₄₇₉ C₄₃₅ C₄₀₃ C₃₇₅ C₂₈₅ C₂₅₉
 D₇₈₉ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₉₀ D₃₄₇ D₃₃₀ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₉₂₄ F₅₉₄ F₄₁₈ G₃₉₆ H₁₃₂₉
 H₁₃₀₀ H₆₂₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₈₅₇ I₄₆₅ I₄₂₈ I₄₀₁ I₂₅₀

11. *Одесский 115* A₁₈₉₁ A₁₇₂₈ A₁₄₉₀ A₁₂₁₃ A₇₉₇ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₈₅₃ C₆₆₀ C₆₄₉ C₄₇₉
 C₄₃₅ C₄₀₃ C₂₈₅ C₂₅₉ D₈₉₂ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₉₀ E₁₀₄₅ E₆₄₄ E₄₈₆ E₂₃₂ F₉₂₄ G₉₇₂ G₄₈₈ G₃₉₆ G₂₄₉ H₁₃₂₉ H₆₇₈ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₅₅₆ I₄₆₅ I₄₂₈
 I₄₀₁ I₂₅₀

12. *Одесский 131* A₁₇₂₈ A₁₄₉₀ A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₇₉₇ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₈₉₀ C₆₆₀ C₆₄₉ C₄₃₅
 C₄₀₃ C₂₉₄ C₂₅₉ D₈₉₂ D₇₈₉ D₇₅₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₃₉₀ E₁₁₈₂ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₁₂₇₈ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₇₁₄ F₅₉₄ F₄₁₈ G₄₈₈ G₃₉₆
 G₂₄₉ H₆₇₈ H₂₈₂ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₅₅₆ I₄₀₁ I₃₁₁ I₂₅₀

13. *Одесский 151* A₁₂₁₃ A₉₇₉ A₇₉₇ A₅₅₀ A₂₂₁ B₁₃₀₀ B₁₀₂₃ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₄₇₃ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₈₉₀ C₆₆₀ C₆₄₉ C₄₇₉ C₄₃₅ C₄₀₃ C₂₉₄ C₂₈₅
 C₂₅₉ D₈₉₂ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₃₀ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₃₂ E₂₀₀ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₇₁₄ F₅₉₄ F₄₁₈ G₉₇₂ G₄₈₈ G₃₉₆
 G₃₄₁ G₂₄₉ H₁₃₂₉ H₆₇₈ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₄₂₈ I₄₀₁ I₃₁₁ I₂₈₅ I₂₅₀

14. *Паллидум 107* A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₉₇₉ A₇₉₇ A₆₀₇ A₅₅₀ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ C₄₀₃ D₈₉₂ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₄₈₈ D₃₉₀ D₃₄₇ E₁₁₈₂ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄
 E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₃₂ E₁₃₉ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₅₉₄ G₉₇₂ G₅₁₈ G₄₈₈ G₃₄₁ G₂₄₉ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₁₂₈₁ H₆₂₅ H₃₀₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₄₆₅ I₄₀₁ I₂₅₀

15. *Переможенный* A₁₃₁₇ A₁₁₂₆ A₉₇₉ A₇₅₈ A₆₀₇ A₅₅₀ A₂₂₁ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ B₃₃₀ C₈₉₀ C₆₄₉ C₄₃₅ C₄₀₃ C₂₉₄ C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₅₁
 D₅₀₃ D₃₃₀ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ F₉₂₄ F₅₉₄ F₄₁₈ G₉₇₂ G₅₁₈ G₄₈₈ G₃₉₆ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₁₂₄₅ H₆₇₈ H₆₂₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇
 I₁₀₄₂ I₈₅₇ I₅₅₆ I₄₆₅ I₄₂₈ I₄₀₁ I₂₅₀

16. *Пивденный* A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₁₁₂₆ A₉₇₉ A₇₉₇ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₄₇₃ C₁₀₈₃ C₁₀₄₅ C₆₆₀ C₅₇₂ C₄₇₉ C₄₃₅
 C₄₀₃ C₂₉₄ C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₃₃₀ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₁₂₇₈ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₇₁₄ F₅₉₄

F₄₁₈ F₂₉₄ G₉₇₂ G₃₉₆ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₈₂₆ H₆₇₈ H₆₂₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₈₅₇ I₄₂₈ I₄₀₁ I₃₁₁ I₂₈₅ I₂₅₀

17. *Прерия* A₁₄₉₀ A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₁₁₂₆ A₇₉₇ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₀₂₃ B₈₉₉ B₇₉₈ B₇₁₄ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ B₃₃₀ C₁₀₈₃ C₈₉₀ C₆₆₀ C₄₇₉ C₄₃₅ C₂₉₄ C₂₈₅ C₂₅₉ D₈₉₂ D₇₈₉ D₅₀₃ D₃₃₀ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₁₂₇₈ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₇₁₄ F₅₉₄ F₄₁₈ G₉₇₂ G₅₈₄ G₅₁₈ G₄₈₈ G₃₉₆ G₃₄₁ G₂₄₉ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₆₇₈ H₃₀₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₈₅₇ I₅₅₆ I₄₂₈ I₄₀₁ I₃₁₁ I₂₈₅ I₂₅₀

18. *Престиж* A₁₈₉₁ A₁₇₂₈ A₁₄₉₀ A₇₉₇ A₇₅₈ A₆₀₇ A₅₅₀ A₄₅₂ A₃₂₁ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ C₁₁₅₀ C₈₉₀ C₆₆₀ C₆₄₉ C₄₇₉ C₄₀₃ C₂₅₉ D₇₈₉ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ D₄₈₈ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₁₂₇₈ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₅₉₄ F₄₁₈ G₉₇₂ G₄₈₈ G₃₉₆ G₃₄₁ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₁₂₄₅ H₈₀₂ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₈₅₇ I₅₅₆ I₄₆₅ I₄₀₁

19. *Рось* A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₉₇₉ A₈₄₁ A₇₉₇ A₆₈₁ A₆₀₇ A₂₂₁ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₈₉₉ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₀₂ B₃₃₀ B₂₄₂ C₄₃₅ C₄₀₃ C₃₇₅ C₂₉₄ C₂₅₉ D₅₀₃ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₃₂ F₁₀₅₈ F₉₂₄ F₅₉₄ F₄₁₈ G₉₇₂ G₅₈₄ G₄₈₈ G₃₉₆ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₈₅₇ I₄₆₅ I₄₂₈ I₄₀₁ I₃₁₁ I₂₈₅ I₂₅₀

20. *Сталкер* A₁₇₂₈ A₁₄₉₀ A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₈₄₁ A₇₉₇ A₆₈₁ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ B₄₇₃ C₁₁₅₀ C₉₉₁ C₈₉₀ C₈₅₃ C₅₇₂ C₄₀₃ C₂₈₅ D₇₈₉ D₇₄₁ D₅₀₃ D₃₉₀ D₃₃₀ E₈₅₇ E₆₄₄ E₆₁₁ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ F₄₁₈ G₉₇₂ G₅₈₄ G₄₈₈ G₃₉₆ G₃₄₁ G₂₄₉ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₁₂₄₅ H₆₇₈ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₈₅₇ I₅₅₆ I₄₆₅ I₃₁₁ I₂₈₅ I₂₅₀

21. *Манас* A₁₈₉₁ A₁₇₂₈ A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₁₁₂₆ A₉₇₉ A₈₄₁ A₇₉₇ A₆₈₁ A₆₀₇ A₅₅₀ A₂₂₁ B₁₃₀₀ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₈₉₀ C₆₆₀ C₆₄₉ C₅₇₂ C₅₃₆ C₃₇₅ C₂₉₄ C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₅₁ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₄₁₈ G₉₇₂ G₅₈₄ G₅₁₈ G₄₈₈ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₁₂₈₁ H₃₀₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₄₆₅ I₃₁₁ I₂₅₀

22. *Одесский 165* A₁₈₉₁ A₁₇₂₈ A₁₄₉₀ A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₁₁₂₆ A₇₉₇ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₃₀₀ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₈₉₀ C₈₅₃ C₆₄₉ C₅₇₂ C₄₀₃ C₃₇₅ C₂₉₄ C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₅₁ E₁₁₈₂ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₃₂ F₄₁₈ G₉₇₂ G₅₈₄ G₄₈₈ G₃₄₁ H₈₆₉ H₈₂₆ H₆₂₅ H₃₀₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₄₂₈ I₄₀₁ I₂₅₀

23. *Одесский 167* A₁₇₂₈ A₁₄₉₀ A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₁₁₂₆ A₉₇₉ A₈₄₁ A₇₉₇ A₆₈₁ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₃₀₀ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ C₄₀₃ D₈₉₂ D₇₈₉ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₃₉₀ E₁₁₈₂ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₄₁₈ G₉₇₂ G₄₈₈ H₃₀₅ H₂₈₂ I₄₀₁ I₃₁₁ I₂₅₀

24. *Основа* A₁₈₉₁ A₁₇₂₈ A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₁₁₂₆ A₉₇₉ A₇₉₇ A₇₅₈ A₆₀₇ A₅₅₀ A₄₅₂ A₂₂₁ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₈₉₉ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₈₆ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₉₉₁ C₈₉₀ C₆₆₀ C₆₄₉ C₅₇₂ C₄₃₅ C₄₀₃ C₃₇₅ C₂₉₄ C₂₈₅ D₇₈₉ D₇₅₁ D₃₉₀ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₄₀₇ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₄₂₄ F₇₁₄ G₉₇₂ G₅₈₄ G₅₁₈ G₄₈₈ G₃₄₁ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₁₂₈₁ H₈₂₆ H₆₂₅ H₃₀₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₅₅₆ I₄₆₅ I₃₁₁ I₂₅₀

25. *Росава* A₇₉₇ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₈₉₀ C₆₆₀ C₆₄₉ C₅₇₂ C₃₇₅ C₂₉₄ C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₈₉ D₇₅₁ D₇₄₁ D₇₁₆ D₅₀₃ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ E₂₀₀ F₄₁₈ G₉₇₂ G₅₈₄ G₅₁₈ G₄₈₈ G₃₉₆ G₃₄₁ G₂₄₉ H₁₃₂₉ H₁₃₀₀ H₁₂₈₁ H₈₂₆ H₆₂₅ H₃₀₅ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₅₅₆ I₄₆₅ I₃₁₁ I₂₅₀

26. *Тайна* A₇₉₇ B₁₃₀₀ B₁₀₆₈ B₁₀₂₃ B₈₉₉ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₆₄₉ C₃₇₅ C₂₉₄ C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₈₉ D₇₅₁ D₇₁₆ D₃₉₀ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₃₂ F₄₁₈ G₉₇₂ G₅₈₄ G₅₁₈ G₄₈₈ G₃₄₁ G₂₄₉ H₂₈₂ I₁₂₀₇ I₁₁₃₀ I₁₀₄₂ I₈₅₇ I₅₅₆ I₄₆₅ I₄₀₁ I₃₁₁ I₂₅₀

27. *Тамань* A₁₈₉₁ A₁₇₂₈ A₁₃₁₇ A₁₂₁₃ A₁₁₂₆ A₇₉₇ A₆₀₇ A₅₅₀ B₁₃₀₀ B₁₀₂₃ B₇₉₈ B₆₂₂ B₅₈₆ B₅₀₂ C₁₁₅₀ C₁₀₈₃ C₈₉₀ C₈₅₃ C₆₄₉ C₅₇₂ C₄₀₃ C₃₇₅ C₂₉₄ C₂₈₅ C₂₅₉ D₇₅₁ E₁₁₈₂ E₁₀₄₅ E₁₀₀₉ E₈₅₇ E₇₀₃ E₆₄₄ E₆₁₁ E₅₅₅ E₄₈₆ E₃₄₈ E₂₇₇ E₂₃₂ G₉₇₂ G₅₈₄ G₅₁₈ G₄₈₈ G₃₉₆ G₃₄₁ G₂₄₉ H₈₂₆ H₆₂₅ H₃₀₅ H₂₈₂ I₂₅₀

Анализ внутрисортного полиморфизма с помощью пяти пар REMAP-праймеров выявил неоднородность восьми сортов ячменя (табл. 7). Количество полиморфных ампликонов — 1–3, а детектированных генотипов (внутри сорта) — 2–6. У сортов Переможный и Прерия полиморфизм детектирован с помощью трех пар праймеров, а у Адапта и Росава — с помощью двух пар праймеров. У сортов Галактик, Пивденный, Рось и Тайна полиморфизм детектирован с одной парой праймеров.

В табл. 8 приведена сравнительная характеристика двух методов ПЦР (IRAP, REMAP), с помощью которых проводилось исследова-

ние. Оба подхода позволяют детектировать значительное количество полиморфных локусов и имеют высокий уровень полиморфизма. Однако у REMAP-анализа основные показатели несколько выше.

Суммарная дендрограмма (не приводится) фенотипических взаимоотношений сортов ячменя одесской селекции, построенная по данным двух использованных методов, представлена двумя кластерами. В состав первого входят яровые сорта ячменя, в состав второго — озимые. Шестирядный сорт Паллидум 107 располагается отдельно от двурядных ячмений. Таким образом, полилокусные системы

ПЦР-анализа IRAP и REMAP с высокой эффективностью дифференцируют сорта ячменя. Детектируемый полиморфизм позволяет дифференцировать яровые и озимые, шести- и двурядные сорта ячменя.

Для характеристики и идентификации сортов использовали метод записи данных ПЦР-анализа в виде формулы, отражающей состав фиксированных локусов. В табл. 9 приводятся праймеры, которые применили в REMAP-анализе и соответствующее буквенное кодирование. Приведенные в табл. 10 детальные формулы позволяют оценить генетическую структуру сортов и сравнить эти показатели при анализе сорта различных лет репродукции.

Выводы. Охарактеризован диапазон межсортовой изменчивости ячменя одесской селекции с помощью IRAP- и REMAP-методов. Сорта ячменя, исследованные с помощью кластерного анализа, дифференцированы на отдельные группы по степени генетической близости. Распределение исследованных сортов отвечает таким признакам, как яровые и озимые, двурядные и шестирядные. Установлена неоднородность исследованных сортов ячменя. В сравнении с SSRP-анализом, использование IRAP- и REMAP-методов является более эффективным для детекции внутрисортного полиморфизма. На базе полученных данных IRAP- и REMAP-анализов проведена регистрация исследованных сортов ячменя: каждому сорту соответствует формула, отражающая состав фиксированных локусов и характеризующая специфичность данного генотипа.

SUMMARY. Application of polylocus biallelic systems of PCR along with monolocus SSR-analysis is very promising approach for detailed characterization, differentiation and identification of crop varieties. Microsatellite sequences and LTR retratransposon fragments are known to be the most variable in plant genome. They can be used in PCR analysis as IRAP and REMAP. Conditions of IRAP and REMAP analyses of intra- and intervariety polymorphism of the barley varieties of Odessa breeding have been elaborated. The detailed genotype formulas are represented

which reflect the intravariety polymorphism and make it possible to detect the changes in variety structure in the course of seed production process.

РЕЗЮМЕ. Для детальної характеристики, диференціювання і ідентифікації сортів сільськогосподарських рослин поряд з SSR-аналізом є перспективними полілокусні біалельні системи ПЛР-аналізу. В геномі рослин як найбільш варіабельні відомі ділянки мікросателітів та LTR фрагменти ретротранспозонів, які можуть бути використаними в ПЛР у вигляді IRAP та REMAP. Розроблено умови IRAP- та REMAP-аналізу ячменю на прикладі сортів одеської селекції. Наведено детальні формули сортів, які відбивають внутрішньосортний поліморфізм і дозволяють прослідкувати за змінами структури сорту, що відбуваються в процесі насінництва.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях* : Науч.-метод. руководство / Под ред. Ю.М. Сиволапа. — К.: Агропромиздат, 1998. — 271 с.
2. *Сиволап Ю.М., Кожухова Н.Е.* ДНК-технології в реєстрації і охороні прав на сорти рослин // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. — 2005. — **1**. — С. 66—74.
3. *Сиволап Ю.М., Бальвинская М.С., Редер М.* SSRP-анализ молекулярно-генетического полиморфизма сортов ярового ячменя южноукраинской селекции // Докл. РАХН. — 2001 — № 5. — С. 3—7.
4. *Kalendar R., Vicient C.M., Peleg O., Ananthawat-Jonsson K., Bolshoy A., Alan H., Schulman A.H.* Large retrotransposon derivatives: abundant, conserved but nonautonomous retroelements of barley and related genomes // *Genetics*. — 2004. — **166** (3). — P. 1437—1450.
5. *Leigh F., Kalendar R., Lea V., Lee D., Donini P., Schulman A.H.* Comparison of the utility of barley retrotransposon families for genetic analysis by molecular marker techniques // *Mol. Genet. and Genom.* — 2003. — **269** (3). — P. 464—474.
6. *Manninen O., Kalendar R., Robinson J., Schulman A.H.* Application of BARE-1 retrotransposon markers to the mapping of a major resistance gene for net blotch in barley // *Mol. Genet. and Genom.* — 2000. — **264**. — P. 325—334.
7. *Kalendar R., Grob T., Regina M.T., Suoniemi A., Schulman A.H.* IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques // *Theor. and Appl. Genet.* — 1999. — **98**. — P. 704—711.

Поступила 19.10.05