

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОТИПОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА УКРАИНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ ПРИ ПОМОЩИ SSRP-АНАЛИЗА



*Предложена новая технология идентификации генотипов подсолнечника при помощи амплификации определенных последовательностей ДНК в результате полимеразной цепной реакции. Исследование 16 микросателлитных локусов генома подсолнечника позволило выявить наборы аллелей, специфичные для 20 инбредных линий подсолнечника украинской селекции и их 14 гибридов F<sub>1</sub>. Определено значение индекса полиморфности (PIC) для каждого проанализированного локуса. Составлены генетические формулы (паспорта) для исследованных генотипов.*

© А.В. САНАЛАТИЙ, А.Е. СОЛОДЕНКО,  
Ю.М. СИВОЛАП, 2006

**Введение.** Развитие ДНК-технологий для улучшения сельскохозяйственных растений связано с разработкой новых универсальных подходов для идентификации и дифференциации генотипов.

В настоящее время в ряде ведущих селекционных фирм и научно-исследовательских институтов, работающих в направлении совершенствования селекции растений, большое внимание уделяется ДНК-профилирующим техникам, к которым относится микросателлитный, или SSRP-анализ (Simple Sequence Repeat Polymorphism), в основе которого лежит тестирование полиморфизма в микросателлитных локусах геномов растений.

Полиморфизм SSR-локусов проявляется за счет различия в количестве коротких tandemных повторов, лежащих между консервативными последовательностями ДНК [1].

Степень гетерозиготности по локусам гипервариабельных районов высока (до 90 %) и, следовательно, они могут быть использованы в качестве кодоминантных генетических маркеров [2, 3].

Результаты целого ряда исследований показывают возможность применения ДНК-маркеров с целью идентификации генотипов растений.

Например, с помощью четырех SSR-маркеров было идентифицировано 99 % из 250 сортов роз. Использование пяти пар праймеров к микросателлитным локусам позволило типировать 50 сортов картофеля [6].

Во Франции, в организации BioGEVES, ведутся работы по созданию системы детекции, состоящей из 100 SSR-маркеров, для оценки меж- и внутрилинейной изменчивости инбредных линий подсолнечника [6].

Актуальной задачей является разработка системы идентификации и регистрации генетических ресурсов подсолнечника на основе ДНК-маркеров, включая создание каталогов генотипических формул и компьютерной базы данных [5]. Для составления формул, которые позволят не только дифференцировать генотипы (сорта, линии), но и отражать уровень генетического родства, необходим анализ 15–20 микросателлитных локусов [4].

Целью настоящей работы являлось изучение аллельного состава микросателлитных локусов у исследуемых генотипов подсолнечника украинской селекции с помощью SSRP-анализа, а также разработка технологии иденти-

Таблица 1

Материал исследования			
Селекционный центр	Инбредные линии	Гибриды (родительские формы)	
СГИ	1036	Одесский 149 (42 × 7В)	
	3369	Одесский 504 (1750 × 4В)	
	1750	Одесский 122 (1036 × 4В)	
	42	Одесский 123 (3369 × 4В)	
	4В	Згода (3369 × РНА)	
	7В		
	РНА		
ИМК	Зл102	Запорожский 26 (Зл102 × × Зл678)	
	Сх1002	Зустріч (Сх1002 × Х712)	
	Зл95	Запорожский 14 (Зл95 × × Зл7/8229)	
		Зл678	
	Х712		
	Зл7/8229		
ИР	Сх1006	Эней (Сх1006 × Х526)	
	Сх2111	Погляд (Сх2111 × Х711)	
	Сх908	Свиточ (Сх1006 × Х711)	
		Красень (Сх908 × Х782)	
		Х526	Харьковский 49 (Сх908 × × Х711)
		Х711	Кий (Сх908 × Х762)
	Х782		
	Х762		

фикации и создание базы данных, отражающей молекулярно-генетическую характеристику селекционных форм.

**Материалы и методы.** Материалом исследования служили 20 инбредных линий подсолнечника из трех основных центров создания генетического материала данной культуры в Украине: Селекционно-генетического института (СГИ, Одесса), Института масличных культур (ИМК, Запорожье) и Института растениеводства им. В.Я. Юрьева (ИР, Харьков), а также 14 гибридов F<sub>1</sub> (табл. 1).

Все линии занесены в Государственный реестр сортов Украины 2002 г.

Праймеры для SSRP-анализа подобраны согласно литературным данным как обнаруживающие полиморфизм у элитных инбредных линий подсолнечника [7].

ДНК выделяли из пятидневных этиолированных проростков цетавлоновым методом.

Аmplификацию проводили на приборе «Терцик» (ДНК-технология, Россия). Состав реакционной смеси: 50 мМ КСl, 20 мМ трис-НСl (рН 8,4 при 25 °С), 0,01 % Tween-20, 2 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,2 мкМ каждого праймера, 200 мкМ каждого dNTP, 20–30 нг ДНК, 1 ед. Taq-полимеразы. Условия амплификации: начальная денатурация — 94 °С 2 мин, 30 циклов при следующих температурно-временных режимах: отжиг 60 °С 30 с, элонгация 72 °С 30 с, денатурация 92 °С 30 с, финальная элонгация 5 мин при 72 °С. Электрофорез продуктов амплификации проводили в денатурирующем полиакриламидном геле (10%-ный акриламид, 7 М мочевины, 1× трис-боратный буфер) при 500 В в течение 160 мин. Окрашивали азотнокислым серебром. Документировали полученные электрофореграммы видеосистемой VDS (Pharmacia Biotech.). Молекулярную массу фрагментов ДНК определяли с помощью компьютерной программы «Image Master 1D Elite» относительно маркера молекулярной массы — ДНК плазмиды pUC19, рестрицированной MspI.

Для каждого локуса рассчитали частоты встречаемости аллелей (как долю генотипов с данным аллелем в исследованной выборке) и индексы полиморфности — Polymorphic Index Content (PIC) по формуле

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2,$$

где  $f_i^2$  — частота  $i$ -того аллеля [8].

**Результаты исследований и их обсуждение.** Для изучения аллельного разнообразия использовали 16 пар праймеров к микросателлитным локусам. Количество аллелей на локус, детектируемых в исследованной выборке генотипов, варьировало от 3 до 8. Всего выявлено 77 аллелей. В наиболее полиморфных локусах (Ha1608, ORS 509, ORS 599) выявлено 8 аллелей, в наименее полиморфном (ORS 602) — 2 аллеля (табл. 2).

Обнаружено в среднем 2,38 аллеля на микросателлитный локус у генотипов селекции ИМК; 2,31 аллеля на локус — на выборке генотипов ИР; для представителей СГИ этот показатель равен 2,13. Средний индекс полиморфности (PIC) исследованных локусов на общей выборке линий и гибридов составил 0,64. Минимальное значение PIC (0,1) наблюдали для локуса ORS 602, максимальное — для локуса Ha 1608 (0,84).

Таблица 2

Характеристика исследованных SSR-локусов подсолнечника

Локус	Код	Повтор	Всего аллелей	Аллели, п.н.	Частота встречаемости аллеля	PIС
Ha 1796	A	(ATT)	3	165	0,45	0,615
				235	0,40	
				252	0,15	
Ha 1608	B	(ATT)	8	164	0,25	0,84
				173	0,05	
				217	0,05	
				228	0,20	
				235	0,10	
				247	0,10	
				253	0,10	
				263	0,15	
ORS 3	C	(AGG)	5	223	0,35	0,72
				226	0,30	
				228	0,05	
				230	0,05	
				232	0,25	
ORS 4	D	(AGG)	3	157	0,45	0,64
				160	0,20	
				172	0,35	
ORS 78	E	(AGG)	5	155	0,20	0,74
				161	0,10	
				204	0,40	
				212	0,15	
				216	0,15	
ORS 509	F	(AT)(GT)	8	183	0,05	0,78
				186	0,05	
				195	0,15	
				204	0,35	
				208	0,05	
				212	0,05	
				234	0,05	
				259	0,25	
ORS 595	G	(AG)	7	127	0,05	0,8
				140	0,10	
				143	0,05	
				168	0,15	
				173	0,15	
				179	0,35	
				185	0,15	
ORS 815	H	(CTT)	5	175	0,1	0,75
				180	0,3	
				183	0,35	
				186	0,15	
				190	0,1	
ORS 599	I	(AG)	8	179	0,10	0,77
				184	0,05	
				186	0,05	

Локус	Код	Повтор	Всего аллелей	Аллели, п.н.	Частота встречаемости аллеля	PIC
ORS 599	I	(AG)	8	190	0,40	
				193	0,05	
				199	0,05	
				203	0,10	
				210	0,20	
ORS 307	J	(AT)(GT)	3	149	0,25	0,5
				153	0,65	
				181	0,10	
ORS 533	K	(CT)	3	150	0,15	0,4
				153	0,75	
				165	0,10	
ORS 1024	L	(AG)	5	224	0,10	0,69
				229	0,30	
				232	0,45	
				235	0,10	
				236	0,05	
ORS 409	M	(AC)	4	132	0,40	0,67
				135	0,35	
				138	0,20	
				142	0,05	
ORS 546	N	(CT)	5	159	0,10	0,7
				161	0,25	
				164	0,05	
				166	0,45	
				169	0,15	
ORS 364	O	(AC)	3	225	0,7	0,47
				228	0,15	
				231	0,15	
ORS 602	P	(CT)	2	247	0,05	0,1
				253	0,95	

77 аллельных вариантов 16 микросателлитных локусов позволяют дифференцировать все 34 селекционные формы подсолнечника.

Согласно данным Knapp et al. [9], исследованные SSR-локусы локализованы на 1, 5, 8, 10, 13, 14 группах сцепления (из представленных 17).

SSRP-анализ локуса На 1608 позволил выявить аллели длиной 164 и 173 п.н., характерные только для инбредных линий селекции ИМК.

Для микросателлита из локуса ORS 4 характерны три аллеля длиной 157, 160 и 172 п.н., причем последний наблюдали только у генотипов СГИ.

По локусу На 1796 отмечено три аллеля 235, 165 и 252 п.н., аллель 252 п.н. отмечен только у инбредов СГИ (табл. 3 и 4).

Распределение аллелей у исследуемых генотипов подсолнечника по локусу ORS 78 характеризуется следующим образом: инбредные линии ИМК имеют аллели 155 и 161 п.н., у представителей СГИ выявлен аллель 216 п.н., для генотипов ИР — 212 п.н., аллель 204 п.н. является общим для материала СГИ и ИР (табл. 4).

По локусу ORS 509 у форм СГИ выявлен аллель 204 п.н., не встречающийся у других проанализированных линий украинской селекции (табл. 4).

При SSRP-анализе локуса ORS 307 выявлено три аллеля 153, 149, 181 п.н., наличие аллеля 153 п.н. характерно для всего материала (табл. 4).

У всей исследованной выборки детектирован аллель длиной 153 п.н. по локусу ORS 533 и аллель 232 п.н. по локусу ORS 1024 (табл. 4).

Для наиболее вариабельных локусов (ORS 595, Ha1608 и ORS 599) характерны восемь типов аллелей: по локусу ORS 595 аллель 179 п.н. встречается у представителей ИМК и СГИ, для генотипов СГИ характерны два аллеля 185 и 140 п.н., в то время как для линий и гибридов ИР характерны три аллеля — 168, 127 и 173 п.н. (табл. 4).

По локусу ORS 409 инбредные линии ИР не полиморфны, у них выявлен один аллель 135 п.н., для генотипов СГИ и ИМК характерно наличие аллелей 132 и 138 п.н.

У представителей селекции СГИ микросателлитный локус ORS 546 представлен одним аллелем 166 п.н., для инбредных линий ИМК и ИР характерно наличие аллелей 161 и 169 п.н.

Определяли частоты встречаемости аллелей и PIC для оценки информативности SSR-локусов. Чем больше выявляется аллелей в локусе и меньше частота их встречаемости, тем более ценным будет он для выявления полиморфизма и дифференциации исследуемого материала. Локусы с такими показателями — оптимальный источник ДНК-маркеров для проведения идентификации и паспортизации.

Исследованные генотипы подсолнечника украинской селекции по 16 SSR-локусам име-

Таблица 3

Аллели, характерные для генотипов определенного центра селекции подсолнечника			
Локус	СГИ	ИМК	ИР
	п.н.		
Ha 1796	252	—	—
ORS 78	216	155 161	212
Ha 1608	228 263	164 173	235 217 253 247
ORS 3	223	232 228	226 230
ORS 509	204	186 183 195 208	234 212 259
ORS 595	185 140	143	168 127 173
ORS 599	179 186 193	184	199 203 210
ORS 307	181	—	—
ORS 1024	—	—	224
ORS 409	—	142	135
ORS 602	—	247	—
ORS 546	—	159 164	—
ORS 364	—	—	231
ORS 533	165	—	—
ORS 4	172	160	—
ORS 815	175	—	—

Таблица 4

Характеристика специфичности некоторых выявленных аллелей, п.н.

Центр создания	Общие аллели для всех генотипов						
	Ha 1796	ORS 815	ORS 307	ORS 364	ORS 1024	ORS 533	ORS 602
ИМК	165	180	153	225 228	232	153	253
СГИ	165	180	153	225 228	232	153	253
ИР	165	180	153	225 228	232	153	253

Центр создания	Алели, характерные для генотипов двух селекционных центров									
	Ha 1796	ORS 4	ORS 78	ORS 815	ORS 595	ORS 599	ORS 307	ORS 533	ORS 409	ORS 546
ИМК	235	157	—	183 186 190	179	190	149	—	132 138	161 — 169
СГИ	—	—	204	— 186 190	179	190	—	150	132 138	— 166 —
ИР	235	157	204	183	—	—	149	150	— —	161 166 169

Таблица 5

Генетические формулы генотипов

Генотип	Формула генотипа
X526	A <sub>235</sub> B <sub>217</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>204</sub> F <sub>212</sub> G <sub>168</sub> H <sub>183</sub> I <sub>194</sub> J <sub>153</sub> K <sub>150</sub> L <sub>232</sub> M <sub>135</sub> N <sub>166</sub> O <sub>231</sub> P <sub>253</sub>
Эней	A <sub>235</sub> B <sub>217-235</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>204-212</sub> F <sub>212-239</sub> G <sub>168</sub> H <sub>183</sub> I <sub>199-203</sub> J <sub>149-153</sub> K <sub>150-153</sub> L <sub>232</sub> M <sub>135</sub> N <sub>166</sub> O <sub>231</sub> P <sub>253</sub>
Cx1006	A <sub>235</sub> B <sub>235</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>212</sub> F <sub>259</sub> G <sub>168</sub> H <sub>183</sub> I <sub>203</sub> J <sub>149</sub> K <sub>153</sub> L <sub>232</sub> M <sub>135</sub> N <sub>166</sub> O <sub>231</sub> P <sub>253</sub>
Свиточ	A <sub>165-235</sub> B <sub>247-235</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>204-212</sub> F <sub>259</sub> G <sub>127-168</sub> H <sub>183</sub> I <sub>203</sub> J <sub>153-149</sub> K <sub>150-153</sub> L <sub>232</sub> M <sub>135</sub> N <sub>161-166</sub> O <sub>228-231</sub> P <sub>253</sub>
X711	A <sub>165</sub> B <sub>247</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>204</sub> F <sub>259</sub> G <sub>127</sub> H <sub>183</sub> I <sub>203</sub> J <sub>153</sub> K <sub>150</sub> L <sub>232</sub> M <sub>135</sub> N <sub>161</sub> O <sub>228</sub> P <sub>253</sub>
Погляд	A <sub>165</sub> B <sub>235-247</sub> C <sub>230-226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>212-204</sub> F <sub>259</sub> G <sub>127-168</sub> H <sub>183</sub> I <sub>203-210</sub> J <sub>153</sub> K <sub>150-153</sub> L <sub>224-232</sub> M <sub>135</sub> N <sub>161-169</sub> O <sub>225-228</sub> P <sub>253</sub>
Cx2111	A <sub>165</sub> B <sub>235</sub> C <sub>230</sub> D <sub>157</sub> E <sub>212</sub> F <sub>259</sub> G <sub>168</sub> H <sub>183</sub> I <sub>210</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>224</sub> M <sub>135</sub> N <sub>169</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Cx908	A <sub>165</sub> B <sub>253</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>212</sub> F <sub>259</sub> G <sub>173</sub> H <sub>183</sub> I <sub>210</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>235</sub> M <sub>135</sub> N <sub>161</sub> O <sub>231</sub> P <sub>253</sub>
Кий	A <sub>165-235</sub> B <sub>253-247</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>204-212</sub> F <sub>234-259</sub> G <sub>173</sub> H <sub>180-183</sub> I <sub>210-153</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>235-224</sub> M <sub>135</sub> N <sub>161-169</sub> O <sub>225-231</sub> P <sub>253</sub>
X762	A <sub>235</sub> B <sub>247</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>204</sub> F <sub>234</sub> G <sub>173</sub> H <sub>180</sub> I <sub>210</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>224</sub> M <sub>135</sub> N <sub>169</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
X782	A <sub>165</sub> B <sub>253</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>204</sub> F <sub>259</sub> G <sub>173</sub> H <sub>183</sub> I <sub>210</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>235</sub> M <sub>135</sub> N <sub>161</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Красень	A <sub>165</sub> B <sub>253</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>204-212</sub> F <sub>259</sub> G <sub>173</sub> H <sub>183</sub> I <sub>210</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>235</sub> M <sub>135</sub> N <sub>161</sub> O <sub>225-231</sub> P <sub>253</sub>
Харковский 49	A <sub>165</sub> B <sub>253-247</sub> C <sub>226</sub> D <sub>157</sub> E <sub>204-212</sub> F <sub>259</sub> G <sub>127-173</sub> H <sub>183</sub> I <sub>210-203</sub> J <sub>153</sub> K <sub>150-153</sub> L <sub>232-235</sub> M <sub>135</sub> N <sub>161</sub> O <sub>228-231</sub> P <sub>253</sub>
ЗЛ102	A <sub>235</sub> B <sub>164</sub> C <sub>232</sub> D <sub>157</sub> E <sub>155</sub> F <sub>208</sub> G <sub>179</sub> H <sub>180</sub> I <sub>190</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>232</sub> M <sub>138</sub> N <sub>159</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Запорожский 26	A <sub>235</sub> B <sub>164</sub> C <sub>232</sub> D <sub>157</sub> E <sub>155</sub> F <sub>186-208</sub> G <sub>143-179</sub> H <sub>180-190</sub> I <sub>190</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229-232</sub> M <sub>138</sub> N <sub>159</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
ЗЛ678	A <sub>235</sub> B <sub>164</sub> C <sub>232</sub> D <sub>157</sub> E <sub>155</sub> F <sub>186</sub> G <sub>143</sub> H <sub>190</sub> I <sub>190</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229</sub> M <sub>138</sub> N <sub>159</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Cx1002	A <sub>235</sub> B <sub>164</sub> C <sub>232</sub> D <sub>160</sub> E <sub>161</sub> F <sub>195</sub> G <sub>179</sub> H <sub>186</sub> I <sub>190</sub> J <sub>149</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229</sub> M <sub>138</sub> N <sub>169</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Зустріч	A <sub>235</sub> B <sub>164</sub> C <sub>232</sub> D <sub>160</sub> E <sub>155-161</sub> F <sub>183-195</sub> G <sub>179</sub> H <sub>180-186</sub> I <sub>190</sub> J <sub>149</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229</sub> M <sub>138-142</sub> N <sub>161-169</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
X712	A <sub>235</sub> B <sub>164</sub> C <sub>232</sub> D <sub>160</sub> E <sub>155</sub> F <sub>183</sub> G <sub>179</sub> H <sub>180</sub> I <sub>190</sub> J <sub>149</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229</sub> M <sub>142</sub> N <sub>161</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
ЗЛ95	A <sub>235</sub> B <sub>164</sub> C <sub>228</sub> D <sub>160</sub> E <sub>161</sub> F <sub>195</sub> G <sub>179</sub> H <sub>183</sub> I <sub>190</sub> J <sub>149</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229</sub> M <sub>132</sub> N <sub>161</sub> O <sub>225</sub> P <sub>247</sub>
Запорожский 14	A <sub>165-235</sub> B <sub>164-173</sub> C <sub>228-232</sub> D <sub>160</sub> E <sub>161-155</sub> F <sub>195</sub> G <sub>179</sub> H <sub>183-186</sub> I <sub>184-190</sub> J <sub>149</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229</sub> M <sub>132</sub> N <sub>161-164</sub> O <sub>225-228</sub> P <sub>247-253</sub>
ЗЛ7/8229	A <sub>165</sub> B <sub>173</sub> C <sub>232</sub> D <sub>160</sub> E <sub>155</sub> F <sub>195</sub> G <sub>179</sub> H <sub>186</sub> I <sub>184</sub> J <sub>149</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229</sub> M <sub>132</sub> N <sub>164</sub> O <sub>228</sub> P <sub>253</sub>
42А	A <sub>252</sub> B <sub>228</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>204</sub> F <sub>204</sub> G <sub>185</sub> H <sub>180</sub> I <sub>179</sub> J <sub>181</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229</sub> M <sub>132</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Одесский 149	A <sub>252</sub> B <sub>228-263</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>204-216</sub> F <sub>204</sub> G <sub>185</sub> H <sub>180</sub> I <sub>179</sub> J <sub>181</sub> K <sub>153</sub> L <sub>229-232</sub> M <sub>132</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225-228</sub> P <sub>253</sub>
7В	A <sub>252</sub> B <sub>263</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>216</sub> F <sub>204</sub> G <sub>185</sub> H <sub>180</sub> I <sub>179</sub> J <sub>181</sub> K <sub>153</sub> L <sub>232</sub> M <sub>132</sub> N <sub>166</sub> O <sub>228</sub> P <sub>253</sub>
1750А	A <sub>165</sub> B <sub>228</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>204</sub> F <sub>204</sub> G <sub>179</sub> H <sub>180</sub> I <sub>186</sub> J <sub>153</sub> K <sub>150</sub> L <sub>232</sub> M <sub>132</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Одесский 504	A <sub>165-252</sub> B <sub>228-263</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>204</sub> F <sub>204</sub> G <sub>140-179</sub> H <sub>180-190</sub> I <sub>186-193</sub> J <sub>153</sub> K <sub>150-165</sub> L <sub>232</sub> M <sub>132-138</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
4В	A <sub>252</sub> B <sub>263</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>204</sub> F <sub>204</sub> G <sub>140</sub> H <sub>190</sub> I <sub>193</sub> J <sub>153</sub> K <sub>163</sub> L <sub>232</sub> M <sub>138</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Одесский 122	A <sub>165-252</sub> B <sub>228-263</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>204-216</sub> F <sub>204</sub> G <sub>140-179</sub> H <sub>175-190</sub> I <sub>190-193</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153-165</sub> L <sub>232</sub> M <sub>132-138</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
1036	A <sub>165</sub> B <sub>228</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>216</sub> F <sub>204</sub> G <sub>179</sub> H <sub>175</sub> I <sub>190</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>232</sub> M <sub>132</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Одесский 123	A <sub>165-252</sub> B <sub>228-263</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>204-216</sub> F <sub>204</sub> G <sub>140-185</sub> H <sub>175-190</sub> I <sub>190-193</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153-165</sub> L <sub>232</sub> M <sub>132-138</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
3369А	A <sub>165</sub> B <sub>228</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>216</sub> F <sub>204</sub> G <sub>185</sub> H <sub>175</sub> I <sub>190</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153</sub> L <sub>232</sub> M <sub>132</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
Згода	A <sub>165</sub> B <sub>228-263</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>204-216</sub> F <sub>204</sub> G <sub>140-185</sub> H <sub>175-186</sub> I <sub>190</sub> J <sub>153</sub> K <sub>153-165</sub> L <sub>232-236</sub> M <sub>132</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>
RNA	A <sub>165</sub> B <sub>263</sub> C <sub>223</sub> D <sub>172</sub> E <sub>204</sub> F <sub>204</sub> G <sub>140</sub> H <sub>186</sub> I <sub>190</sub> J <sub>153</sub> K <sub>163</sub> L <sub>236</sub> M <sub>132</sub> N <sub>166</sub> O <sub>225</sub> P <sub>253</sub>

ют уникальное сочетание аллелей. Некоторые линии (ЗЛ102, ЗЛ678, Сх1002, Х712, ЗЛ95, ЗЛ7/8229), созданные в одном селекционном центре, различаются как минимум по 1 из 16 локусов.

Использование SSR-маркеров позволяет более объективно подойти к выяснению происхождения линий и гибридов, а также отобразить уникальность генетического материала.

Информация об аллельном составе микросателлитных локусов была записана в виде формул, которые представляют собой молекулярно-генетический паспорт (табл. 5). В приведенных формулах локус обозначен буквой латинского алфавита, а молекулярная масса аллеля приводится в нижнем индексе. Паспорт свидетельствует об отличительных особенностях структуры ДНК линии, гибрида, что позволяет проводить их идентификацию.

**Выводы.** SSRP-анализ показал молекулярно-генетическое разнообразие исследованного материала по аллелям 16 микросателлитных локусов. Выявлены наборы аллелей, индивидуальные для каждого генотипа подсолнечника украинской селекции. Определено среднее значение индекса полиморфности для каждого локуса. Составлены генетические формулы для 34 генотипов подсолнечника.

*Авторы выражают благодарность Стивену Дж. Кнаппу из Орегонского университета (г. Корваллис, США) за любезно предоставленную информацию о последовательностях праймеров, разработанных для исследования микросателлитных локусов генома подсолнечника.*

**SUMMARY.** Amplification of determined DNA sequences using polymerase chain reaction allows to provide a new technology of sunflower genotype identification. Investigation of 16 microsatellite loci of sunflower genome allowed to isolate the allele sets specific to 20 inbred lines of Ukrainian breeding and their 14 F<sub>1</sub> hybrids. A polymorphic index content (PIC) per each analysed locus has been defined. The genetic formulas (passports) have been formed for the investigated genotypes.

**РЕЗЮМЕ.** Ампліфікація визначених послідовностей ДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції дозволяє запропонувати нову технологію ідентифікації генотипів соняшника. Дослідження 16 микросателітних локусів геному соняшника дозволило виявити набори алелів, які є специфічними для 20 інбредних ліній соняшника української селекції та їх 14 гібридів F<sub>1</sub>. Визначено значення індексу поліморфності (PIC) для кожного проаналізованого локуса. Складено генетичні формули (паспорти) для досліджених генотипів.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Календарь Р.Н., Глазко В.И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // Физиология и биохимия культур растений. — 2002. — 34, № 4. — С. 279—296.
2. Saghai-marooif M., Soliman K., Jorgenson R., Allard R. Extraordinary polymorphic microsatellite DNA in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1994. — 81. — P. 5466—5470.
3. Akkaya M., Bhagwat A., Cregan P. Length polymorphism of simple sequence repeat DNA in soybean // Genetics. — 1992. — 132. — P. 1131—1139.
4. Ідентифікація і реєстрація генотипів м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.), ячменю (*Hordeum vulgare* L.), кукурудзи (*Zea mays*), соняшника (*Helianthus annuus* L.) за допомогою аналізу микросателітних локусів: Метод. рекомендації. — Одеса, 2004.
5. Чеботарь С.В., Сиволап Ю.М. Дифференциация, идентификация и создание базы данных сортов *T. aestivum* L. украинской селекции на основе STMS-анализа.
6. Отчет про участие в работе 7-й сессии технической рабочей группы UPOV по биохимическим и молекулярным методам. — Ганновер, 2001.
7. Tang S., Knapp S.J. Microsatellites uncover extraordinary diversity in native American land races and wild population of cultivated sunflower // 2002, steven.j.knapp@orst.edu
8. Smith J.S.C. et al. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.): Comparison with data from RFLPs and pedigree // 1997, BMT / 4/ 2, 29 p.
9. Tang S., Knapp S.J. Simple sequence repeat map of the sunflower genome // Theor. Appl. Genet. — 2002. — 105. — P. 1124—1136.

Поступила 29.11.05