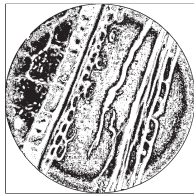


НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
Институт генетики и цитологии

# ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

ТОМ **4**



Биотехнология  
в селекции  
растений  
Геномика  
и генетическая  
инженерия

Минск  
«Беларуская навука»  
2014

УДК 631.52

**Генетические основы селекции растений.** В 4 т. Т. 4. Биотехнология в селекции растений. Геномика и генетическая инженерия / науч. ред. А. В. Кильчевский, Л. В. Хотылева. – Минск : Беларуская навука, 2014. – 653 с. – ISBN 978-985-08-1791-4.

Настоящий коллективный труд, подготовленный учеными Белорусского общества генетиков и селекционеров, выходит с 2008 г. и посвящен обобщению опыта применения генетических методов в совершенствовании частной селекции растений.

В четвертом томе отражены результаты исследований по разработке и применению маркер-сопутствующего отбора таких важных в хозяйственном отношении культур, как пшеница, ячмень, кукуруза, рожь, тритикале, соя, рапс, лен, томат, картофель, сахарная свекла, яблоня, груша, лесные и декоративные культуры. Показана возможность повышения эффективности отбора и ускорения селекции по хозяйственно ценным признакам у этих культур. Представлены результаты по использованию ДНК-маркеров для целей паспортизации культивируемых в Беларуси сортов растений. Также том включает материалы, отражающие состояние проблемы трансгеноза растений и пути генетической трансформации, и результаты научных исследований по разработке методов генетической трансформации и получению первичных трансгенных растений картофеля, льна, а также модельных растений табака и арабидопсиса.

Монография рассчитана на научных работников в области генетики и селекции растений, преподавателей и студентов биологических и сельскохозяйственных вузов, специалистов сельского хозяйства.

Табл. 145. Ил. 245. Библиогр.: 1550 назв.

**Научные редакторы:**

доктор биологических наук, профессор,  
член-корреспондент НАН Беларуси А. В. Кильчевский,  
доктор биологических наук, профессор, академик Л. В. Хотылева

**Рецензенты:**

доктор биологических наук, профессор, академик В. Н. Решетников,  
доктор биологических наук, профессор, академик Н. А. Ламан

*Издание подготовлено при участии Белорусского общества генетиков  
и селекционеров*

**ISBN 978-985-08-1791-4 (т. 4)**  
**ISBN 978-985-08-0990-2**

© Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 2014  
© Оформление. РУП «Издательский дом «Беларуская навука», 2014

## Глава 18

---

### МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В ТАКСОНОМИИ, МЕТАБОЛОМ-НАПРАВЛЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ И СОХРАНЕНИИ ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО БОТАНИЧЕСКОГО САДА НАН БЕЛАРУСИ

Ботанические сады составляют основу системы сохранения биоразнообразия растений *ex situ* и играют важную роль в выполнении задач Глобальной стратегии сохранения растений. Собранные в садах генофонды поддерживаются в коллекциях генетических ресурсов. Главной предпосылкой изучения генетического фонда растительного мира является поиск и привлечение новых видов и форм, а также глубокое исследование уже имеющегося материала для использования в будущем в хозяйственной деятельности, как правило, посредством вовлечения в процесс направленной селекции.

Коллекции генетических ресурсов растений ботанических садов являются составной частью государственной системы сохранения и рационального использования биоразнообразия, идентификации наиболее уникальных генотипов и подразделяются в соответствии со своим предназначением на следующие категории: национальные базовые коллекции, активные рабочие, дублетные, генетические, стержневые, гербарные, коллекции меристем, ДНК и РНК [1, 2].

В коллекционных фондах Центрального ботанического сада НАН Беларуси (ЦБС) объединены более 30 самостоятельных растительных коллекций, которые зарегистрированы в Министерстве природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, их состав уточняется и анализируется с помощью современных методов исследования, которые проводит Отдел биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси начиная с 2000 г. Отдельным направлением подразделения является создание, поддержание и пополнение коллекций асептических культур хозяйственно полезных растений ЦБС НАН Беларуси, трансгенных и модифицированных растений, ДНК-коллекций. Весь введенный в асептическую коллекцию материал – уникальный. Такой материал ценен как для фундаментальных исследований, в которых ткани и клетки *in vitro* являются модельной системой для изучения клеточных процессов, так и для решения прикладных задач в области масштабного воспроизводства оздоровленного материала, создания новых сортов, производства лекарственных препаратов и др. К основным задачам следует отнести массовое промышленное производство востребованных хозяйственно ценных растений для целей озеленения, наработку суспензионной культуры с повышенным содержанием биологически активных соединений, создание новых сортов растений, сохранение биоразнообразия растений. Для ботанических садов весьма актуальными являются цели сохранения редких таксонов, их морф, сортов, *ex situ* консервация редких в природе видов,

документирование образцов. На всех этапах сохранения, начиная с гербаризирования, воспроизведения, сохранения, реинтродукции и др., необходимо осуществлять строгое документирование и сертификацию образцов. Активное использование сертификации образцов/коллекций на основе молекулярных маркеров является неотъемлемым этапом сохранения и поддержания коллекций с необходимой точностью [3].

Развитие молекулярных методов исследований и разработка на их основе усовершенствованных тест-систем позволяет анализировать генетический полиморфизм на уровне продуктов генов (белковый или биохимический полиморфизм) и генетического материала клетки (полиморфизм ДНК) [4, 5]. Определение генетической конституции отдельных особей и последующая оценка генетического разнообразия в пределах той или иной группы можно вести двумя путями: либо опосредованно, по проявлению фенотипических или биохимических признаков, либо напрямую, определяя различия на генетическом уровне. Во втором случае широко применяются молекулярные маркеры.

Молекулярные маркеры представляют собой последовательность аминокислот в белковой молекуле или нуклеотидов в молекуле ДНК, и характеризуются определенной структурой и наследуемостью [6–8]. Молекулярно-биологические технологии широко применяются сегодня для решения научных задач таксономии, эволюции, экологии и сохранения биологического разнообразия, в том числе растительных ресурсов [9].

Однако исходя из поставленных задач, в каждом конкретном случае необходимо осуществить подбор или разработку оптимального метода маркирования, наиболее подходящего для их решения. Так, например, при всех достоинствах изоферментов, у них есть и ряд недостатков – наличие ограниченного количества маркеров и средняя разрешающая способность в выявлении изменчивости. В то же время преимуществом группы ДНК-методов является непосредственный анализ структуры ДНК. Кроме того, ДНК-маркеры характеризуются рядом методических преимуществ: возможность тестирования в любых вегетативных тканях, на любых стадиях развития, длительность хранения образцов ДНК, возможность использования гербарного материала, ископаемых остатков и т. п., отсутствие ограничений в числе маркеров на образец. Эффективным инструментом для изучения генетического разнообразия является маркирование белоккодирующих последовательностей, а также некодирующих областей (интронные, межгенные, регуляторные области и т. п.), повторяющихся последовательностей [10].

При выборе *маркерной системы*, оптимально отвечающей на поставленные вопросы при оценке генетического разнообразия, необходимо учитывать, что ДНК-маркеры должны обладать рядом важных характеристик, на основании которых осуществляют их классификацию [11]. *По уровню изменчивости* (монотипность, гипервариабельность) маркер должен обладать высокополиморфной природой для оценки генетического разнообразия. *По характеру наследования* маркеры могут быть доминантными или кодоминантными, что позволяет определять гомозиготное и гетерозиготное состояние диплоидного организма. Мар-

керы могут различаться по *механизму передачи* (обоеполюе наследование, наследование только по материнской или отцовской линии), *локализации в геноме* (ядерная, хлоропластная, митохондриальная ДНК). Кроме того, маркер должен быть равномерно и с высокой частотой распределен по геному. Важным условие выбора эффективного маркера является его нейтральность по *селективной природе*: последовательности ДНК любого организма должны обладать нейтральной природой по отношению к условиям окружающей среды и применяемым методам.

Помимо указанных характеристик, маркеры должны обладать *надежностью и доступностью* при получении и оценке, обладать высокой *воспроизводимостью*, позволяющей обмениваться данными между лабораториями.

Для оценки генетического разнообразия видов, популяций, коллекций и т. п. проводят генотипирование или генетическую паспортизацию особей или форм, составляющих исследуемую группу. Это означает, что для каждой особи или формы проверяют наличие и характер проявления у нее множества молекулярно-генетических маркеров. В конечном счете количество анализируемых локусов должно быть настолько велико, чтобы по ним можно было отличить любые особи или формы в коллекции (популяции).

В данной работе представлены исследования отдела биохимии и биотехнологии растений, осуществляемые с 2000 г. по документированию и молекулярной паспортизации образцов коллекций ЦБС НАН Беларуси. Объектами разработок являлись ботанические коллекции следующих родов: *Vaccinium L.*, *Amaranthus L.*, *Potentilla L.*, *Syringa L.* и *Trigonella L.*

Работа с каждой культурой проведена с целью разработки набора уникальных генетических маркеров, позволяющих с наименьшими временными и финансовыми затратами выполнять точную молекулярно-генетическую паспортизацию и идентификацию генотипов этих хозяйственно ценных видов. Для исследований межсортового полиморфизма, выявления генетического сходства/отдаленности генотипов сортов с целью их дифференцирования нами был выбран комплексный подход совместного использования двух методик, основанных на RAPD- (random amplified polymorphic DNA) и ISSR- (inter simple sequence repeats) ПЦР. Это продиктовано очевидными преимуществами данных методов, а также возможностью значительно расширить зоны покрытия, получить генетические маркеры в двух независимых срезах при совместном использовании этих маркерных систем.

В каждом случае проводили работу по тестированию выбранной маркерной системы и оптимизации методики. Результатом такой работы являются генетические паспорта каждого исследуемого генотипа (особи, сорта, формы, вида), которые позволяют не только отличать образцы друг от друга и следить за генетической чистотой и однородностью размножаемых сортов, но и определять степень генетического сходства между ними, выявлять наиболее уникальные генотипы [5, 12], выяснять пути эволюции и распространения диких видов, выбирать исходный материал для селекции, патентовать сорта и защищать авторские права селекционеров, решать важные таксономические, экономические задачи,

проводить направленную селекцию по желаемым признакам культур [13, 14]. Таким образом, по ДНК-типированию разрабатывается метод идентификации генотипов растений, под которым мы понимаем набор аллелей, который уникально дифференцирует организм или группу генетически однородных организмов [15].

### 18.1. Род *Vaccinium* L.

Голубика высокая является коммерчески важной культурой и успешно возделывается в странах Северной Америки и Европы [16]. Существует большое разнообразие сортов голубики высокой (около двухсот), в основном селекции США, а также Германии, Польши и др. Работы по интродукции культуры в Беларуси начаты в Центральном ботаническом саду НАН Беларуси в 1980-х гг. [17]. К настоящему времени в ЦБС НАН Беларуси поддерживается коллекция из 49 сортов голубики, в том числе 12 сортов – в коллекции *in vitro*.

Для видов *Vaccinium* предпринят ряд филогенетических исследований на основе использования молекулярно-генетических маркеров, в том числе для распознавания сортов культур. На основе RAPD-маркеров было произведено дифференцирование сортов и диких форм *Vaccinium* [18–22], а также опубликована карта сцепления диких диплоидных видов рода [22, 23]. Для голубики высокой были проведены исследования по идентификации сортов с помощью произвольных праймеров [21], разработаны микросателлитные (SSR) маркеры на основе EST-локусов для этой культуры [24] и проведена SSR-сертификация сортов [25].

В связи с высокой актуальностью культуры, возникновением нового направления – промышленного голубиководства, а также высокой востребованностью и эффективностью фармакологических субстанций из растительного сырья голубики [26] стоит задача строгой сертификации коллекционного и посадочного материала и коллекций *in vitro* на основе современных молекулярно-биологических и генетических методов, разработки методологии проведения анализа и его стандартизации. Создание генетического паспорта сорта является стратегической необходимостью при оценке качества растительного материала: подтверждения сортности, стабильности генотипа при микрклональном размножении и т. д.

Цель данного исследования состояла в разработке и стандартизации комплексного RAPD + ISSR генотипирования сортов голубики высокой, внесенных в Государственный реестр Республики Беларусь, создании их уникальных RAPD + ISSR сертификатов. Для обнаружения генетической variability и с целью выявления взаимосвязей между 12 сертифицированными сортами голубики высокой был проведен скрининг ряда праймеров. После первичного анализа были отобраны три RAPD и два ISSR-праймера, выявляющие наибольший полиморфизм между исследованными генотипами голубики высокой, которые и были использованы в настоящей работе. Использованные зонды позволили получить четкие воспроизводимые ампликоны, набор которых для каждого исследуемого сорта характеризовался уникальностью, т. е. они обнаруживали полиморфизм между всеми сортами и таким образом позволяли их дифференцировать.

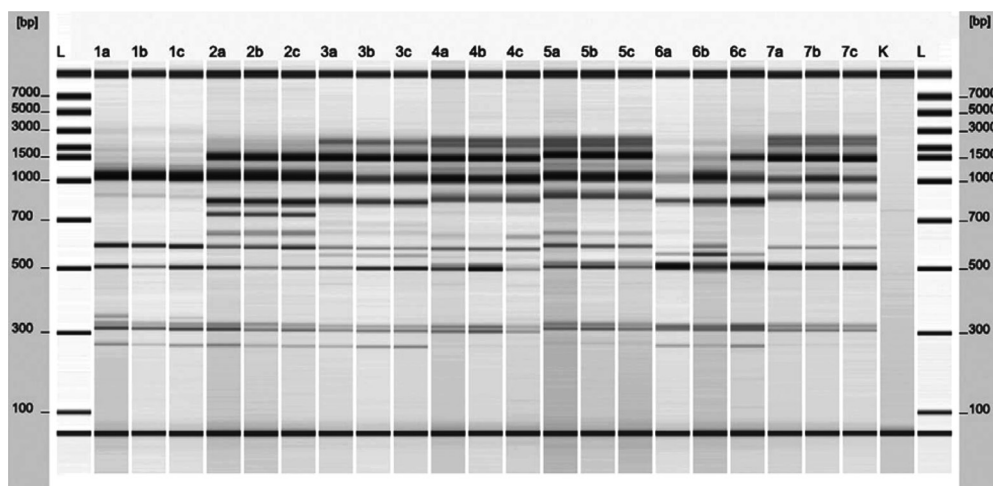


Рис. 18.1. Разделение ампликонов геномной ДНК сортов *V. corymbosum* с произвольным праймером OPA-08 на «Bioanalyzer-2100»: 1 – Bluecrop; 2 – Elisabeth; 3 – Earlyblue; 4 – Northland; 5 – Duke; 6 – Patriot; 7 – Bluest; a, b, c – повторности; K – контроль; L – стандарт длин фрагментов (bp)

На рис. 18.1 представлено разделение ампликонов, сгенерированных в результате ПЦР геномной ДНК сортов *V. corymbosum* с произвольным праймером OPA-08, проведенное на приборе «Bioanalyzer-2100» («Agilent»). Прибор «Bioanalyzer-2100» позволяет быстро, с высокой точностью разделять фрагменты амплификации, получать воспроизводимые и сопоставимые данные.

Всего было сгенерировано 46 дискретных RAPD-маркеров (в среднем 15 маркеров на праймер) и 40 ISSR-маркеров (20 маркеров на праймер). Число амплифицированных фрагментов варьировало от 13 (праймер OPA-08) до 19 (OPA-09). ISSR-праймерами было сгенерировано в среднем по 20 ампликонов на образец. RAPD- и ISSR-маркеры обладали размерами в областях 270–2500 и 225–1775 bp соответственно. Праймеры OPA-09, OPA-20 и UBC-818 обнаружили 100%-ный полиморфизм между проанализированными сортами и позволили различить все генотипы. Все использованные RAPD- и ISSR-праймеры позволили разработать генотип-специфические (уникальные) маркеры. Зонды OPA-20 и UBC-824 наиболее эффективно генерировали сортоспецифические маркеры, которые могут послужить основой для создания SCAR-маркеров и маркирования генов биосинтеза вторичных метаболитов культуры.

Коэффициенты генетического подобия  $Nei$  и  $Li$ , рассчитанные для 12 исследованных генотипов *V. corymbosum* на основе ISSR- и RAPD-локусов как по отдельности, так и совместно (RAPD + ISSR) [27], были использованы для создания дистанционных матриц, и далее для построения дендрограмм по методу UPGMA (данные не представлены).

Поскольку дендрограммы, основанные на данных RAPD- и ISSR-анализа, обнаружили довольно схожую кластеризацию генотипов голубики высокой ( $r = 0,908$ ), данные были объединены в сводной RAPD + ISSR-матрице (данные не представлены) и консенсусной дендрограмме (RAPD + ISSR), которая представлена на рис. 18.2.

Таблица 18.1. Мультислокусные генетические паспорта сортов Голубики высокорослой

Сорт	Прайма/локус				
	OPA-08 (A08)	OPA-09 (A09)	OPA-20 (A20)	UBC-818 (818)	UBC-824 (824)
Bluecrop	A08 <sub>270*</sub> , A08 <sub>310*</sub> , A08 <sub>325*</sub> , A08 <sub>505*</sub> , A08 <sub>590*</sub> , A08 <sub>1070</sub>	A09 <sub>325*</sub> , A09 <sub>440*</sub> , A09 <sub>475*</sub> , A09 <sub>650*</sub> , A09 <sub>685*</sub> , A09 <sub>815*</sub> , A09 <sub>1065</sub>	A20 <sub>515*</sub> , A20 <sub>545*</sub> , A20 <sub>560*</sub> , A20 <sub>670*</sub> , A20 <sub>750*</sub> , A20 <sub>955*</sub> , A20 <sub>1110*</sub> , A20 <sub>1430</sub>	818 <sub>230*</sub> , 818 <sub>305*</sub> , 818 <sub>375*</sub> , 818 <sub>470*</sub> , 818 <sub>530*</sub> , 818 <sub>620*</sub> , 818 <sub>660</sub>	824 <sub>525*</sub> , 824 <sub>545*</sub> , 824 <sub>635*</sub> , 824 <sub>645*</sub> , 824 <sub>670*</sub> , 824 <sub>990</sub>
Bluetta	A08 <sub>310*</sub> , A08 <sub>325*</sub> , A08 <sub>505*</sub> , A08 <sub>590*</sub> , A08 <sub>875*</sub> , A08 <sub>1070*</sub> , A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>310*</sub> , A09 <sub>325*</sub> , A09 <sub>505*</sub> , A09 <sub>530*</sub> , A09 <sub>560*</sub> , A09 <sub>585*</sub> , A09 <sub>615*</sub> , A09 <sub>630*</sub> , A09 <sub>685*</sub> , A09 <sub>745*</sub> , A09 <sub>860</sub>	A20 <sub>300*</sub> , A20 <sub>515*</sub> , A20 <sub>560*</sub> , A20 <sub>670*</sub> , A20 <sub>750*</sub> , A20 <sub>835*</sub> , A20 <sub>955*</sub> , A20 <sub>1110*</sub> , A20 <sub>1295</sub>	818 <sub>305*</sub> , 818 <sub>375*</sub> , 818 <sub>470*</sub> , 818 <sub>550*</sub> , 818 <sub>570*</sub> , 818 <sub>720*</sub> , 818 <sub>880*</sub> , 818 <sub>945</sub>	824 <sub>445*</sub> , 824 <sub>525*</sub> , 824 <sub>670*</sub> , 824 <sub>815*</sub> , 824 <sub>990</sub>
Collins	A08 <sub>310*</sub> , A08 <sub>325*</sub> , A08 <sub>485*</sub> , A08 <sub>505*</sub> , A08 <sub>590*</sub> , A08 <sub>845*</sub> , A08 <sub>1070*</sub> , A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>180*</sub> , A09 <sub>220*</sub> , A09 <sub>280*</sub> , A09 <sub>325*</sub> , A09 <sub>370*</sub> , A09 <sub>410*</sub> , A09 <sub>440*</sub> , A09 <sub>560*</sub> , A09 <sub>605*</sub> , A09 <sub>650*</sub> , A09 <sub>1065</sub>	A20 <sub>215*</sub> , A20 <sub>300*</sub> , A20 <sub>500*</sub> , A20 <sub>560*</sub> , A20 <sub>670*</sub> , A20 <sub>905*</sub> , A20 <sub>955*</sub> , A20 <sub>1110</sub>	818 <sub>230*</sub> , 818 <sub>270*</sub> , 818 <sub>290*</sub> , 818 <sub>305*</sub> , 818 <sub>375*</sub> , 818 <sub>400*</sub> , 818 <sub>470*</sub> , 818 <sub>620*</sub> , 818 <sub>720*</sub> , 818 <sub>810*</sub> , 818 <sub>880*</sub> , 818 <sub>945</sub>	824 <sub>525*</sub> , 824 <sub>545*</sub> , 824 <sub>635*</sub> , 824 <sub>740*</sub> , 824 <sub>860*</sub> , 824 <sub>905*</sub> , 824 <sub>1040</sub>
Denis blue	A08 <sub>270*</sub> , A08 <sub>310*</sub> , A08 <sub>505*</sub> , A08 <sub>545*</sub> , A08 <sub>590*</sub> , A08 <sub>640*</sub> , A08 <sub>765*</sub> , A08 <sub>825*</sub> , A08 <sub>875*</sub> , A08 <sub>1070*</sub> , A08 <sub>1285</sub>	A09 <sub>380*</sub> , A09 <sub>440*</sub> , A09 <sub>505*</sub> , A09 <sub>560*</sub> , A09 <sub>605*</sub> , A09 <sub>650*</sub> , A09 <sub>780</sub>	A20 <sub>215*</sub> , A20 <sub>300*</sub> , A20 <sub>500*</sub> , A20 <sub>515*</sub> , A20 <sub>560*</sub> , A20 <sub>1110*</sub> , A20 <sub>1295*</sub> , A20 <sub>1580*</sub> , A20 <sub>2025</sub>	818 <sub>305*</sub> , 818 <sub>330*</sub> , 818 <sub>375*</sub> , 818 <sub>400*</sub> , 818 <sub>470*</sub> , 818 <sub>510*</sub> , 818 <sub>570*</sub> , 818 <sub>660*</sub> , 818 <sub>720*</sub> , 818 <sub>810*</sub> , 818 <sub>945</sub>	824 <sub>445*</sub> , 824 <sub>525*</sub> , 824 <sub>545*</sub> , 824 <sub>565*</sub> , 824 <sub>585*</sub> , 824 <sub>670*</sub> , 824 <sub>860*</sub> , 824 <sub>905*</sub> , 824 <sub>1040</sub>
Duke	A08 <sub>310*</sub> , A08 <sub>325*</sub> , A08 <sub>505*</sub> , A08 <sub>590*</sub> , A08 <sub>640*</sub> , A08 <sub>875*</sub> , A08 <sub>1070*</sub> , A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>325*</sub> , A09 <sub>505*</sub> , A09 <sub>530*</sub> , A09 <sub>560*</sub> , A09 <sub>585*</sub> , A09 <sub>650*</sub> , A09 <sub>685*</sub> , A09 <sub>745*</sub> , A09 <sub>860</sub>	A20 <sub>515*</sub> , A20 <sub>560*</sub> , A20 <sub>835*</sub> , A20 <sub>955*</sub> , A20 <sub>1110*</sub> , A20 <sub>2025</sub>	818 <sub>305*</sub> , 818 <sub>375*</sub> , 818 <sub>470*</sub> , 818 <sub>510*</sub> , 818 <sub>550*</sub> , 818 <sub>570*</sub> , 818 <sub>880*</sub> , 818 <sub>945</sub>	824 <sub>445*</sub> , 824 <sub>525*</sub> , 824 <sub>670*</sub> , 824 <sub>815*</sub> , 824 <sub>990</sub>
Earlyblue	A08 <sub>270*</sub> , A08 <sub>310*</sub> , A08 <sub>325*</sub> , A08 <sub>505*</sub> , A08 <sub>565*</sub> , A08 <sub>590*</sub> , A08 <sub>845*</sub> , A08 <sub>1070*</sub> , A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>505*</sub> , A09 <sub>530*</sub> , A09 <sub>560*</sub> , A09 <sub>585*</sub> , A09 <sub>605*</sub> , A09 <sub>650*</sub> , A09 <sub>685*</sub> , A09 <sub>815*</sub> , A09 <sub>860*</sub> , A09 <sub>1450</sub>	A20 <sub>545*</sub> , A20 <sub>560*</sub> , A20 <sub>670*</sub> , A20 <sub>700*</sub> , A20 <sub>835*</sub> , A20 <sub>1110*</sub> , A20 <sub>1430*</sub> , A20	818 <sub>305*</sub> , 818 <sub>375*</sub> , 818 <sub>420*</sub> , 818 <sub>470*</sub> , 818 <sub>530*</sub> , 818 <sub>660*</sub> , 818 <sub>880*</sub> , 818 <sub>1010</sub>	824 <sub>445*</sub> , 824 <sub>525*</sub> , 824 <sub>565*</sub> , 824 <sub>635*</sub> , 824 <sub>685*</sub> , 824 <sub>920*</sub> , 824 <sub>1040</sub>



Elisabeth	A08 <sub>270°</sub> , A08 <sub>310°</sub> , A08 <sub>325°</sub> A08 <sub>505°</sub> , A08 <sub>590°</sub> , A08 <sub>640°</sub> A08 <sub>765°</sub> , A08 <sub>845°</sub> , A08 <sub>1070°</sub> A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>440°</sub> , A09 <sub>505°</sub> , A09 <sub>530°</sub> A09 <sub>585°</sub> , A09 <sub>630°</sub> , A09 <sub>685°</sub> A09 <sub>860°</sub> , A09 <sub>895°</sub> , A09 <sub>925°</sub>	A20 <sub>560°</sub> , A20 <sub>670°</sub> , A20 <sub>835°</sub> A20 <sub>905°</sub> , A20 <sub>955°</sub> , A20 <sub>1110°</sub> A20 <sub>1430°</sub> , A20 <sub>2025°</sub>	818 <sub>305°</sub> , 818 <sub>375°</sub> , 818 <sub>470°</sub> , 818 <sub>660°</sub> , 818 <sub>945°</sub>	824 <sub>445°</sub> , 824 <sub>525°</sub> , 824 <sub>645°</sub> 824 <sub>660°</sub> , 824 <sub>905°</sub> , 824 <sub>990°</sub>
Hardy blue	A08 <sub>270°</sub> , A08 <sub>310°</sub> , A08 <sub>305°</sub> A08 <sub>345°</sub> , A08 <sub>590°</sub> , A08 <sub>640°</sub> A08 <sub>825°</sub> , A08 <sub>875°</sub> , A08 <sub>1070°</sub> A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>325°</sub> , A09 <sub>370°</sub> , A09 <sub>440°</sub> A09 <sub>560°</sub> , A09 <sub>585°</sub> , A09 <sub>605°</sub> A09 <sub>650°</sub> , A09 <sub>700°</sub> , A09 <sub>745°</sub> A09 <sub>860</sub>	A20 <sub>215°</sub> , A20 <sub>300°</sub> , A20 <sub>500°</sub> A20 <sub>345°</sub> , A20 <sub>360°</sub> , A20 <sub>835°</sub> A20 <sub>955°</sub> , A20 <sub>1110°</sub> , A20 <sub>1430</sub>	818 <sub>590°</sub> , 818 <sub>805°</sub> , 818 <sub>830°</sub> , 818 <sub>830°</sub> , 818 <sub>830°</sub> 818 <sub>875°</sub> , 818 <sub>900°</sub> , 818 <sub>970°</sub> , 818 <sub>1010°</sub> 818 <sub>570°</sub> , 818 <sub>685°</sub> , 818 <sub>810°</sub> , 818 <sub>1010</sub>	824 <sub>445°</sub> , 824 <sub>525°</sub> , 824 <sub>545°</sub> , 824 <sub>905°</sub> 824 <sub>1040</sub>
Nordblue	A08 <sub>310°</sub> , A08 <sub>505°</sub> , A08 <sub>590°</sub> A08 <sub>825°</sub> , A08 <sub>875°</sub> , A08 <sub>1070°</sub> A08 <sub>1285°</sub> , A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>325°</sub> , A09 <sub>370°</sub> , A09 <sub>440°</sub> A09 <sub>560°</sub> , A09 <sub>605°</sub> , A09 <sub>605°</sub> A09 <sub>745°</sub> , A09 <sub>815°</sub> , A09 <sub>860°</sub> A09 <sub>1065°</sub> , A09 <sub>1450</sub>	A20 <sub>215°</sub> , A20 <sub>300°</sub> , A20 <sub>485°</sub> A20 <sub>500°</sub> , A20 <sub>515°</sub> , A20 <sub>560°</sub> A20 <sub>670°</sub> , A20 <sub>955°</sub> , A20 <sub>1110°</sub> A20 <sub>1295°</sub> , A20 <sub>1580°</sub> , A20 <sub>2025°</sub>	818 <sub>230°</sub> , 818 <sub>305°</sub> , 818 <sub>375°</sub> , 818 <sub>400°</sub> 818 <sub>470°</sub> , 818 <sub>570°</sub> , 818 <sub>620°</sub> , 818 <sub>660°</sub> 818 <sub>810°</sub> , 818 <sub>880</sub>	824 <sub>305°</sub> , 824 <sub>325°</sub> , 824 <sub>445°</sub> , 824 <sub>525°</sub> 824 <sub>545°</sub> , 824 <sub>670°</sub> , 824 <sub>905°</sub> , 824 <sub>1040</sub>
Northland	A08 <sub>310°</sub> , A08 <sub>325°</sub> , A08 <sub>505°</sub> A08 <sub>390°</sub> , A08 <sub>640°</sub> , A08 <sub>875°</sub> A08 <sub>1070°</sub> , A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>325°</sub> , A09 <sub>505°</sub> , A09 <sub>530°</sub> A09 <sub>560°</sub> , A09 <sub>585°</sub> , A09 <sub>605°</sub> A09 <sub>650°</sub> , A09 <sub>685°</sub> , A09 <sub>745°</sub> A09 <sub>860</sub>	A20 <sub>315°</sub> , A20 <sub>560°</sub> , A20 <sub>835°</sub> A20 <sub>955°</sub> , A20 <sub>1110</sub>	818 <sub>305°</sub> , 818 <sub>375°</sub> , 818 <sub>470°</sub> , 818 <sub>550°</sub> 818 <sub>570°</sub> , 818 <sub>660°</sub> , 818 <sub>720°</sub> , 818 <sub>880°</sub> 818 <sub>945°</sub>	824 <sub>445°</sub> , 824 <sub>525°</sub> , 824 <sub>670°</sub> , 824 <sub>815°</sub> 824 <sub>990</sub>
Patriot	A08 <sub>270°</sub> , A08 <sub>310°</sub> , A08 <sub>325°</sub> A08 <sub>505°</sub> , A08 <sub>565°</sub> , A08 <sub>845°</sub> A08 <sub>1070°</sub> , A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>325°</sub> , A09 <sub>475°</sub> , A09 <sub>505°</sub> A09 <sub>530°</sub> , A09 <sub>585°</sub> , A09 <sub>605°</sub> A09 <sub>650°</sub> , A09 <sub>685°</sub> , A09 <sub>745°</sub> A09 <sub>815°</sub> , A09 <sub>1065</sub>	A20 <sub>545°</sub> , A20 <sub>560°</sub> , A20 <sub>835°</sub> A20 <sub>1110°</sub> , A20 <sub>2025°</sub>	818 <sub>305°</sub> , 818 <sub>470°</sub> , 818 <sub>530°</sub> , 818 <sub>620°</sub> 818 <sub>660</sub>	824 <sub>405°</sub> , 824 <sub>445°</sub> , 824 <sub>525°</sub> , 824 <sub>545°</sub> 824 <sub>635°</sub> , 824 <sub>905°</sub>
Weymouth	A08 <sub>270°</sub> , A08 <sub>310°</sub> , A08 <sub>385°</sub> A08 <sub>485°</sub> , A08 <sub>505°</sub> , A08 <sub>565°</sub> A08 <sub>590°</sub> , A08 <sub>825°</sub> , A08 <sub>875°</sub> A08 <sub>1070°</sub> , A08 <sub>1285°</sub> , A08 <sub>1510</sub>	A09 <sub>280°</sub> , A09 <sub>325°</sub> , A09 <sub>370°</sub> A09 <sub>390°</sub> , A09 <sub>440°</sub> , A09 <sub>530°</sub> A09 <sub>560°</sub> , A09 <sub>605°</sub> , A09 <sub>650°</sub> A09 <sub>685°</sub> , A09 <sub>860°</sub> , A09 <sub>980°</sub> A09 <sub>1065°</sub> , A09 <sub>1450</sub>	A20 <sub>315°</sub> , A20 <sub>300°</sub> , A20 <sub>500°</sub> A20 <sub>315°</sub> , A20 <sub>560°</sub> , A20 <sub>635°</sub> A20 <sub>700°</sub> , A20 <sub>750°</sub> , A20 <sub>905°</sub> A20 <sub>1110</sub>	818 <sub>590°</sub> , 818 <sub>830°</sub> , 818 <sub>700°</sub> , 818 <sub>510°</sub> 818 <sub>620°</sub> , 818 <sub>660°</sub> , 818 <sub>720°</sub> , 818 <sub>810°</sub> 818 <sub>880°</sub> , 818 <sub>945°</sub> , 818 <sub>1010</sub>	824 <sub>350°</sub> , 824 <sub>362°</sub> , 824 <sub>460°</sub> , 824 <sub>475°</sub> 824 <sub>565°</sub> , 824 <sub>585°</sub> , 824 <sub>615°</sub> , 824 <sub>740°</sub> 824 <sub>905°</sub> , 824 <sub>1040</sub>

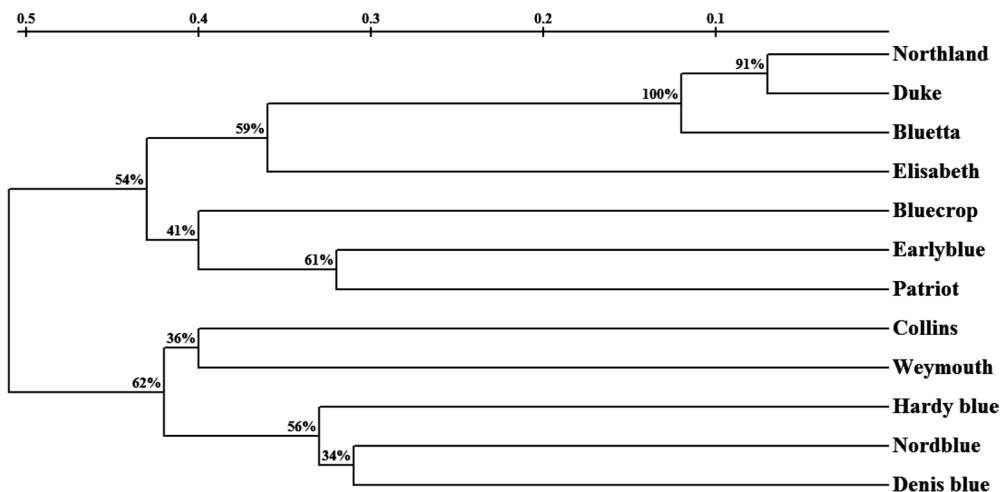


Рис. 18.2. Консенсусная дендрограмма сортов голубики, сгенерированная с использованием алгоритма UPGMA на основе 46 RAPD-маркеров и 40 ISSR-маркеров. Горизонтальная шкала позволяет определить дистанцию между сортами. Цифры около узлов отражают величины поддержки, основанные на 100 репликах бутстреп-анализа

В соответствии с RAPD + ISSR-дендрограммой была уточнена и детализирована кластеризация генотипов, полученная на основе RAPD- и ISSR-данных в отдельности. В целом распределение ветвей в RAPD + ISSR дендрограмме повторяет таковое в ISSR- и RAPD-дендрограммах. При этом были получены большие величины поддержки ветвей (бутстреп) по сравнению с данными RAPD- или ISSR-анализов для Duke/Northland. В связи с тем что произвольные последовательности и простые повторы, использованные в качестве зондов при анализе, сканируют различные участки генома, мы считаем, что объединение данных двух анализов детализирует RAPD- и ISSR-результаты. Поэтому данные кластеризации сортов Bluecrop, Patriot, Earlyblue и Elisabeth в RAPD + ISSR-дендрограмме принимаем как уточненные (рис. 18.2).

На основании проведенных RAPD, ISSR и RAPD + ISSR анализов кластерный анализ позволил получить данные о генетическом родстве исследованных генотипов голубики высокой. Так, можно предположить, что для сортов Northland и Duke, а также Bluetta и Elisabeth использованы общие родительские формы при селекции. Отдельно отстоящие сорта Bluecrop и Patriot, наиболее родственные между собой, а также Earlyblue, вероятно, имеют в своих родословных общую предковую форму. Величины бутстреп-анализа, показывающие относительную поддержку кластеров, варьировали от 100 до 34%. Требуется дополнительное увеличение числа локусов для повышения разрешающей способности анализа.

Генотипические паспорта, полученные с помощью RAPD- и ISSR-праймеров для сортов голубики высокой, представленные в табл. 18.1, будут служить основой для проведения строгой сортовой сертификации посадочного материала голубики высокой и *in vitro* коллекций. Разработанные уникальные спектры для каждого сорта (паспорта) можно использовать как эталоны для проведения идентификации образцов и подтверждения сортности генотипов культуры [28, 29].

## 18.2. Род *Amaranthus* L.

Амарант – распространенный род преимущественно однолетних травянистых растений, относится к семейству Амарантовых, широко используется в ряде стран как овощная (*A. tricolor* L., *A. mangostanus* L. и другие виды), зерновая (*A. caudatus* L.) и декоративная (*A. caudatus* L., *A. hypochondriacus* L. и др.) культуры.

Актуальность культуры *Amaranthus* и наличие сортов и видов в коллекции ЦБС НАН Беларуси, а также проведение работ по получению субстанций из растительного сырья амаранта ставит задачу строгой молекулярно-генетической сертификации коллекционного материала с целью сохранения, дальнейшей селекции, обмена генетическим материалом с другими ботаническими садами и держателями коллекций [30, 31].

В зоне умеренного климатического пояса в основном культивируются четыре вида амаранта: *A. cruentus* L. (Syn.: *A. paniculatus*), *A. hypochondriacus*, *A. caudatus* и *A. tricolor*. На сегодняшний день предприняты попытки использования молекулярных маркеров для изучения взаимоотношений различных видов амаранта, генетического разнообразия видов амаранта и их филогенетического анализа, эволюционного происхождения культуры: изоферментный анализ, RAPD, AFLP, SSR, SCAR, ITS регион, ISSR-генотипирование [32–37].

Однако до проведения данных исследований не существовало данных по изучению генетической дифференциации сортов амаранта, в особенности селекции на территории стран СНГ. Соответственно предстояло решить задачу по идентификации генотипов амаранта на внутривидовом уровне с использованием RAPD- и ISSR-техник. Для исследований внутривидового полиморфизма, определения генетического сходства/отдаленности генотипов сортов с целью их дифференцирования нами был использован комплексный RAPD- и ISSR-ПЦР подход.

Использованные праймеры OPA-20, OPA-16, OPA-18 и OPB-03 позволили дифференцировать все исследованные генотипы амаранта. Праймеры OPE-14 и OPD-07 также генерировали четкие воспроизводимые ампликоны и позволили различить практически все генотипы. Однако зонд OPE-14 не выявил отличий между сортами Прелюдия (*A. caudatus*), Чародей (*A. hybridus*) и Зеленая сосулька (*A. caudatus*); OPD-07 не позволил различить сорта Прелюдия (*A. caudatus*), Чародей (*A. hybridus*) и Зеленая сосулька (*A. caudatus*), а также генерировал идентичные спектры для сортов Рубин (*A. paniculatus*) и Ультра (1) (*A. paniculatus*). Исходя из данных о видовой принадлежности, следует сделать вывод, что праймеры OPE-14 и OPD-07 не могут быть использованы для дифференциации генотипов на внутривидовом уровне для видов *A. caudatus*, *A. hybridus* и *A. paniculatus*, однако могут быть использованы для генетической паспортизации сортов видов *A. hypochondriacus* и *A. tricolor*.

Для проведения ISSR-анализа сортов *Amaranthus* spp. были использованы 4 микросателлитных праймера, выбранные на основании существующих литературных данных. Все исследованные праймеры, кроме UBC-866, были применены для дальнейшего генотипирования сортов *Amaranthus* spp. Праймер UBC-866, хотя и выявлял воспроизводимые полосы, все же не позволил дифференцировать

Таблица 18.2. Мультислокусные генетические паспорта сортов *Amaranthus spp.*

Сорт	Праймер/Локус								
	OPA-16	OPA-18	OPA-20	OPB-03	OPD-07	OPE-14	ISSCR-04		
Валентина	<u>OPA16</u> <sub>2,60°</sub>	<b>OPA18</b> <sub>3,30°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>2,90°</sub>	<u>OPA20</u> <sub>5,50°</sub>	<u>OPB03</u> <sub>2,70°</sub>	<u>OPD07</u> <sub>4,75°</sub>	<u>OPE14</u> <sub>5,75°</sub>	<u>ISSCR4</u> <sub>2,55°</sub>	<u>UBC846</u> <sub>2,70°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>3,15°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>2,30°</sub>
	<u>OPA16</u> <sub>4,85°</sub>	<u>OPA18</u> <sub>3,80°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>4,30°</sub>	<u>OPA20</u> <sub>6,80°</sub>	<u>OPB03</u> <sub>4,25°</sub>	<u>OPD07</u> <sub>9,75°</sub>	<u>OPE14</u> <sub>7,10°</sub>	<u>ISSCR4</u> <sub>2,75°</sub>	<u>UBC846</u> <sub>3,35°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>4,30°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>2,45°</sub>
	<u>OPA16</u> <sub>5,25°</sub>	<u>OPA18</u> <sub>5,35°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>5,70°</sub>	<u>OPA20</u> <sub>7,85°</sub>	<b>OPB03</b> <sub>4,65°</sub>	<u>OPD07</u> <sub>1,630</sub>	<u>OPE14</u> <sub>7,50°</sub>	<b>ISS-</b>	<u>UBC846</u> <sub>4,45°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>4,95°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>2,70°</sub>
	<u>OPA16</u> <sub>7,95°</sub>	<u>OPA18</u> <sub>6,25°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>6,80°</sub>	<u>OPA20</u> <sub>9,20°</sub>	<u>OPB03</u> <sub>5,10°</sub>		<u>OPE14</u> <sub>8,15°</sub>	<b>CR4</b> <sub>4,60°</sub>	<u>UBC846</u> <sub>6,05°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>6,40°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>3,30°</sub>
	<u>OPA16</u> <sub>9,20°</sub>	<u>OPA18</u> <sub>7,45°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>8,80°</sub>	<u>OPA20</u> <sub>11,55°</sub>	<b>OPB03</b> <sub>7,25°</sub>		<u>OPE14</u> <sub>9,05°</sub>	<b>ISS-</b>	<u>UBC846</u> <sub>6,75°</sub> , <b>UBC846</b> <sub>7,20°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>3,75°</sub>
	<u>OPA16</u> <sub>11,340°</sub>	<u>OPA18</u> <sub>9,85°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>11,80°</sub>	<u>OPA20</u> <sub>15,10°</sub>	<u>OPB03</u> <sub>1,440</sub>		<u>OPE14</u> <sub>9,85°</sub>	<b>CR4</b> <sub>8,05°</sub>	<u>UBC846</u> <sub>8,45°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>9,00°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>4,05°</sub>
	<u>OPA16</u> <sub>1800</sub>	<u>OPA18</u> <sub>1,350°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>1,905°</sub>	<b>OPA20</b> <sub>17,65°</sub>			<u>OPE14</u> <sub>11,50°</sub>	<b>ISS-</b>	<b>UBC846</b> <sub>10,75°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>4,35°</sub>
		<u>OPA18</u> <sub>2,405°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>2,845</sub>	<b>OPA20</b> <sub>26,25</sub>			<u>OPE14</u> <sub>17,70</sub>	<b>CR4</b> <sub>8,70°</sub>	<u>UBC846</u> <sub>13,70°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>16,45</sub>	<u>UBC857</u> <sub>4,80°</sub>
							<u>ISSCR4</u> <sub>11,85°</sub>		<u>UBC857</u> <sub>4,90°</sub>
							<u>ISSCR4</u> <sub>1,305</sub>		<u>UBC857</u> <sub>5,65°</sub>
									<u>UBC857</u> <sub>6,10°</sub>
									<u>UBC857</u> <sub>6,70°</sub>
									<u>UBC857</u> <sub>6,70°</sub>
									<u>UBC857</u> <sub>9,50</sub>
Зеленая сосулька	<u>OPA16</u> <sub>2,60°</sub>	<b>OPA18</b> <sub>3,50°</sub> , <b>OPA18</b> <sub>4,70°</sub>	<b>OPA20</b> <sub>2,60°</sub>	<u>OPB03</u> <sub>4,25°</sub>	<u>OPD07</u> <sub>4,75°</sub>	<b>OPE14</b> <sub>4,25°</sub>	<u>ISSCR4</u> <sub>2,55°</sub>	<u>UBC846</u> <sub>2,70°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>3,35°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>2,30°</sub>
	<u>OPA16</u> <sub>4,85°</sub>	<u>OPA18</u> <sub>6,25°</sub> , <b>OPA18</b> <sub>6,90°</sub>	<b>OPA20</b> <sub>3,75°</sub>	<b>OPB03</b> <sub>8,20°</sub>	<b>OPD07</b> <sub>9,05°</sub>	<b>OPE14</b> <sub>4,65°</sub>	<u>ISSCR4</u> <sub>2,75°</sub>	<b>UBC846</b> <sub>3,70°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>4,05°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>2,45°</sub>
	<u>OPA16</u> <sub>5,25°</sub>	<u>OPA18</u> <sub>9,85°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>11,80°</sub>	<b>OPA20</b> <sub>4,06°</sub>	<u>OPB03</u> <sub>1,440</sub>	<u>OPD07</u> <sub>9,75°</sub>	<u>OPE14</u> <sub>5,75°</sub>	<b>ISSCR4</b> <sub>2,40</sub>	<u>UBC846</u> <sub>4,30°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>4,45°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>2,70°</sub>
	<b>OPA16</b> <sub>6,90°</sub>	<b>OPA18</b> <sub>1,430°</sub>	<u>OPA20</u> <sub>4,70°</sub>		<u>OPD07</u> <sub>1,630</sub>	<u>OPE14</u> <sub>7,50°</sub>		<u>UBC846</u> <sub>4,95°</sub> , <b>UBC846</b> <sub>5,35°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>4,35°</sub>
	<u>OPA16</u> <sub>7,95°</sub>	<u>OPA18</u> <sub>2,405°</sub> , <u>OPA18</u> <sub>2,845</sub>	<b>OPA20</b> <sub>5,00°</sub>			<u>OPE14</u> <sub>8,15°</sub>		<b>UBC846</b> <sub>5,80°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>6,40°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>4,90°</sub>
	<b>OPA16</b> <sub>8,90°</sub>		<u>OPA20</u> <sub>6,80°</sub>			<u>OPE14</u> <sub>9,05°</sub>		<u>UBC846</u> <sub>6,75°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>7,30°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>5,65°</sub>
	<b>OPA16</b> <sub>12,50</sub>		<u>OPA20</u> <sub>9,20°</sub>			<u>OPE14</u> <sub>9,85</sub>		<b>UBC846</b> <sub>9,95°</sub> , <u>UBC846</u> <sub>8,45°</sub>	<u>UBC857</u> <sub>6,10°</sub>
		<u>OPA20</u> <sub>11,55°</sub>					<u>UBC846</u> <sub>9,85°</sub> , <b>UBC846</b> <sub>12,70</sub>	<u>UBC857</u> <sub>6,70°</sub>	
		<b>OPA20</b> <sub>13,35°</sub>						<b>UBC857</b> <sub>7,00°</sub>	
		<u>OPA20</u> <sub>15,10</sub>						<u>UBC857</u> <sub>8,70</sub>	

	<u>ОРА16</u> <sub>485*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>525*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>395*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>920*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>1340*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>1800</sub>	<u>ОРА18</u> <sub>380*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>535*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>680*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>880*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>1180*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>1905*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>2405*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>2845</sub>	<u>ОРА20</u> <sub>550*</sub> <u>ОРА20</u> <sub>680*</sub> <u>ОРА20</u> <sub>920*</sub> <u>ОРА20</u> <sub>1155*</sub> <u>ОРА20</u> <sub>1510</sub>	<u>ОПВ03</u> <sub>270*</sub> <u>ОПВ03</u> <sub>395*</sub> <u>ОПВ03</u> <sub>405*</sub> <u>ОПВ03</u> <sub>425*</sub> <u>ОПВ03</u> <sub>510*</sub> <u>ОПВ03</u> <sub>1440</sub>	<u>ОПД07</u> <sub>475*</sub> <u>ОПД07</u> <sub>775*</sub> <u>ОПД07</u> <sub>1630</sub>	<u>ОПЕ14</u> <sub>575*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>750*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>905*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>985*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>1150</sub>	<u>ИСССР4</u> <sub>255*</sub> <u>ИСССР4</u> <sub>275*</sub> <b>ISS-</b> <b>CR4</b> <sub>1250*</sub> <b>ISS-</b> <b>CR4</b> <sub>1340</sub>	<u>UBC846</u> <sub>270*</sub> <u>UBC846</u> <sub>315*</sub> <u>UBC846</u> <sub>430*</sub> <u>UBC846</u> <sub>495*</sub> <u>UBC846</u> <sub>605*</sub> <u>UBC846</u> <sub>640*</sub> <u>UBC846</u> <sub>720*</sub> <u>UBC846</u> <sub>845*</sub> <u>UBC846</u> <sub>900*</sub> <u>UBC846</u> <sub>930*</sub> <u>UBC846</u> <sub>1045</sub> <b>UBC846</b> <sub>1315*</sub>	<u>UBC857</u> <sub>230*</sub> <u>UBC857</u> <sub>245*</sub> <u>UBC857</u> <sub>270*</sub> <u>UBC857</u> <sub>330*</sub> <u>UBC857</u> <sub>375*</sub> <u>UBC857</u> <sub>405*</sub> <u>UBC857</u> <sub>435*</sub> <u>UBC857</u> <sub>480*</sub> <u>UBC857</u> <sub>565*</sub> <u>UBC857</u> <sub>610*</sub> <u>UBC857</u> <sub>670*</sub> <u>UBC857</u> <sub>870*</sub> <u>UBC857</u> <sub>950</sub>
Крепыш	<u>ОРА16</u> <sub>260*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>185*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>525*</sub> <b>ОРА16</b> <sub>560*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>795*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>920*</sub> <u>ОРА16</u> <sub>1800</sub>	<u>ОРА18</u> <sub>290*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>535*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>625*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>745*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>985*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>1180*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>1350*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>2405*</sub> <u>ОРА18</u> <sub>2845</sub>	<u>ОРА20</u> <sub>470*</sub> <u>ОРА20</u> <sub>550*</sub> <u>ОРА20</u> <sub>680*</sub> <u>ОРА20</u> <sub>920*</sub> <u>ОРА20</u> <sub>1155</sub>	<u>ОПВ03</u> <sub>270*</sub> <u>ОПВ03</u> <sub>405*</sub> <u>ОПВ03</u> <sub>425*</sub> <u>ОПВ03</u> <sub>510*</sub> <b>ОПВ03</b> <sub>905*</sub> <b>ОПВ03</b> <sub>1090*</sub> <u>ОПВ03</u> <sub>1440</sub>	<u>ОПД07</u> <sub>475*</sub> <u>ОПД07</u> <sub>775*</sub> <u>ОПД07</u> <sub>1630</sub>	<u>ОПЕ14</u> <sub>575*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>710*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>750*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>815*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>905*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>985*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>1150*</sub> <u>ОПЕ14</u> <sub>1770</sub>	<u>ИСССР4</u> <sub>255*</sub> <u>ИСССР4</u> <sub>275*</sub> <u>ИСССР4</u> <sub>1185*</sub> <u>ИСССР4</u> <sub>1305</sub>	<u>UBC846</u> <sub>270*</sub> <u>UBC846</u> <sub>315*</sub> <u>UBC846</u> <sub>430*</sub> <u>UBC846</u> <sub>445*</sub> <u>UBC846</u> <sub>495*</sub> <u>UBC846</u> <sub>605*</sub> <u>UBC846</u> <sub>640*</sub> <u>UBC846</u> <sub>675*</sub> <u>UBC846</u> <sub>720*</sub> <u>UBC846</u> <sub>845*</sub> <u>UBC846</u> <sub>900*</sub> <u>UBC846</u> <sub>1370*</sub> <u>UBC846</u> <sub>1645</sub>	<u>UBC857</u> <sub>230*</sub> <u>UBC857</u> <sub>245*</sub> <u>UBC857</u> <sub>270*</sub> <u>UBC857</u> <sub>330*</sub> <u>UBC857</u> <sub>375*</sub> <u>UBC857</u> <sub>405*</sub> <u>UBC857</u> <sub>435*</sub> <u>UBC857</u> <sub>480*</sub> <u>UBC857</u> <sub>490*</sub> <u>UBC857</u> <sub>565*</sub> <u>UBC857</u> <sub>610*</sub> <u>UBC857</u> <sub>670*</sub> <u>UBC857</u> <sub>870*</sub> <u>UBC857</u> <sub>950</sub>
Ультра									

Примечание. Жирным шрифтом обозначены сортоспецифические (уникальные) локусы; подчеркнуты локусы, встречающиеся у всех вовлеченных в исследование сортов.

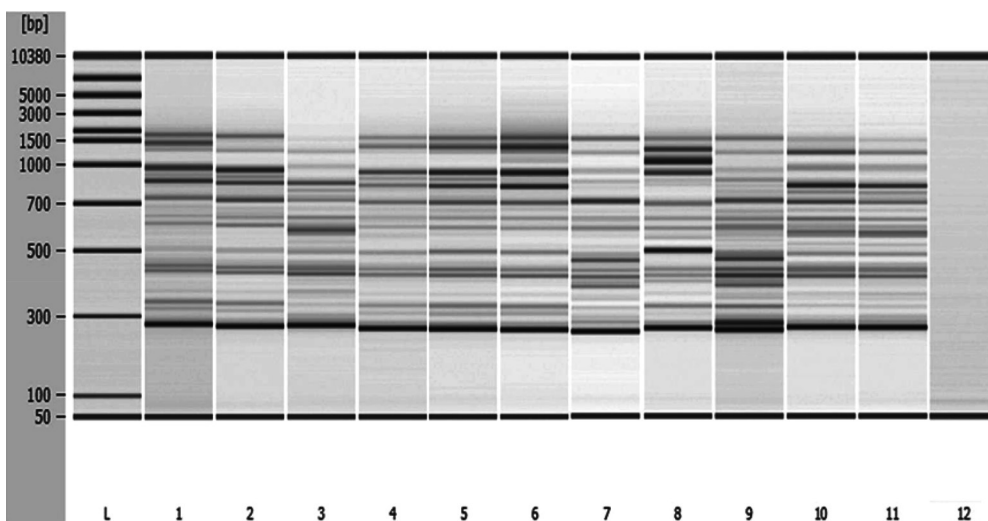


Рис. 18.3. Разделение ампликонов геномной ДНК *Amaranthus* spp. с микросателлитным праймером UBC-846 на приборе «Bioanalyzer 2100» («Agilent»): 1 – Кизлярец; 2 – Крепыш; 3 – Зеленая сосулька; 4 – Сэм; 5 – Ультра (1); 6 – Валентина; 7 – Жемчужина; 8 – Рубин; 9 – Чародей; 10 – Прелеюдия; 11 – Ультра (2); 12 – отрицательный контроль; L – стандарт длины фрагментов

исследованные генотипы, так как не выявлял закономерного внутри- и межвидового полиморфизма. Праймеры UBC-846, ISSCR-4 и UBC-857 удовлетворяли поставленным задачам и позволили дифференцировать все сорта амаранта.

Разделение продуктов ПЦР тотальной ДНК сортов амаранта с произвольным праймером UBC-846 представлено на рис. 18.3. В результате проведенного генетического фингерпринтинга 10 сортов *Amaranthus* с применением 6 RAPD-праймеров и 3 ISSR-праймера были дифференцированы все исследованные генотипы, и разработаны уникальные профили для каждого из них (табл. 18.2), рассчитаны генетические дистанции родства/отдаленности, маркированы уникальные для ряда сортов локусы.

RAPD- и ISSR-генотипирование сортов амаранта коллекции ЦБС выявило сходные результаты степени родства изучаемых сортов: кластеризация в консенсусных, RAPD- и ISSR-дендрограммах сохраняется, однако есть небольшие отличия в субкластеризации некоторых сортов (данные не приведены). На основании 91 RAPD и 69 ISSR маркеров была сгенерирована консенсусная RAPD + ISSR дендрограмма, представленная на рис. 18.4. Комплексный RAPD + ISSR-анализ данных позволил осуществить более тонкий анализ различий генотипов исследуемых образцов, уточнить генетические взаимосвязи исследуемых сортов *Amaranthus* spp.

Так, сорта Кизлярец, Крепыш и Сэм, относящиеся к виду *A. hypochondriacus*, формируют отчетливый кластер, обозначенный на рис. 18.4 как A1. Тем не менее сорт Сэм отстоит от сортов Кизлярец и Крепыш, которые образуют единый субкластер. Полученные данные хорошо согласуются с тем, что эти сорта созданы в разных селекционных центрах (сорта Кизлярец и Крепыш – ВНИИССОК (Россия), сорт Сэм – ХНАУ им. В. В. Докучаева).

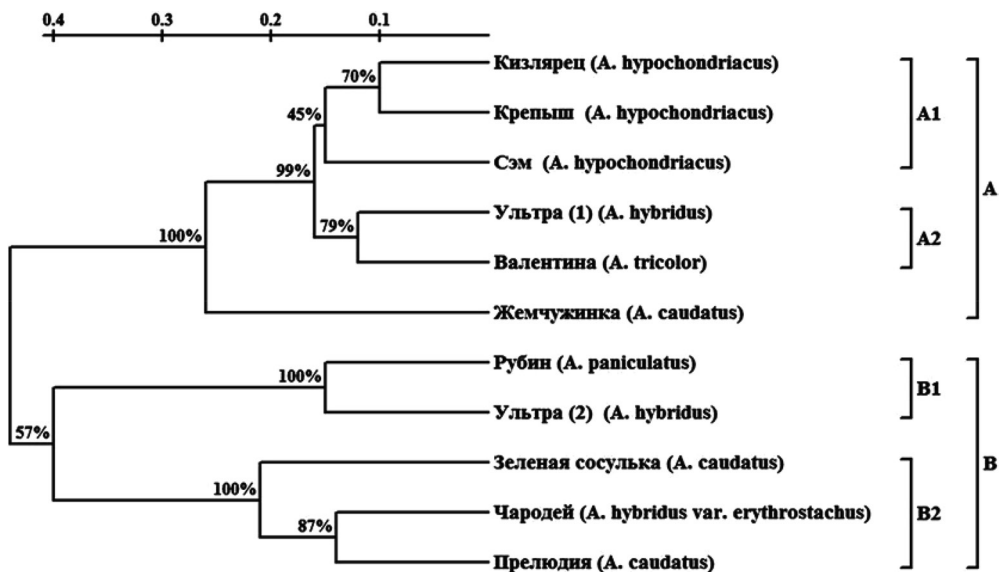


Рис. 18.4. Консенсусная RAPD + ISSR-дендрограмма, отражающая степень генетического сходства/различия между сортами *Amaranthus* spp., полученная на основании 160 маркеров, сгенерированных праймерами ОРА-20, ОРА-16, ОРА-18, ОРЕ-14, ОРЕ-07 и ОРВ-03, UBC-846, ISSCR-4 и UBC-857. Значения бутстрепа указаны над соответствующей ветвью (%)

Сорт Валентина (ВНИИССОК, Россия), относящийся к виду *A. tricolor*, располагается так же, как и сорт Ультра (1) (*A. hybridus*), в кластере, обозначенном на рис. 18.4 как А2, формирующем с кластером А1 (*A. hypochondriacus*) метакластер А. Таким образом, использованная система RAPD + ISSR-маркирования позволила различить сорта видов *A. hypochondriacus* и *A. tricolor* и получить свидетельства в пользу их родства.

Вид *A. hybridus* – сложная в таксономическом отношении группа, представители которой являются результатом процесса гибридизации ряда видов (*A. paniculatus*, *A. caudatus*, *A. hypochondriacus*, *A. hybridus* var. *erythrosthachus*, *A. cruentus* и др.) [33, 35]. Нами сделано предположение, что генотип сорта Ультра (1), возможно, является результатом межвидовой гибридизации *A. hypochondriacus* и *A. tricolor*.

Сорта Рубин (*A. paniculatus*, ЦБС НАН Б) и Ультра (2) (*A. hybridus*) образуют кластер В1 в метакластере В (рис. 18.4), что дает основание предположить принадлежность сорта Ультра (2) к разновидности *paniculatus* вида *A. hybridus*.

Кластер В2 формируют сорта Зеленая сосулька и Прелюдия, относящиеся к виду *A. caudatus*, а также сорт Чародей, который, по предоставленной селекционером информации, относится к виду *A. hybridus* var. *erythrosthachus*.

Расположение сорта Чародей в окружении представителей вида *A. caudatus* и высокие значения бутстрепа в данном кластере позволяют предположить, что форма *erythrosthachus* вида *A. hybridus* может состоять в родстве с видом *A. caudatus*.

Расположение сорта Жемчужинка селекции ЦБС (*A. caudatus*) отдельной ветвью в метакластере А (объединяющем генотипы *A. hypochondriacus* и *A. tricolor*),

а не в В2, требует проведения дополнительного генотипирования эталонной линии сорта и родительских форм, чтобы исключить вероятность того, что исследованный образец сорта Жемчужинка не является результатом переопыления [38]. Генотипические паспорта исследованных образцов *Amaranthus* spp. из коллекции ЦБС приведены в таблице 18.2. Проведенные биохимический анализ и физико-химическая характеристика некоторых сортов из коллекции при сопоставлении с данными генетической сертификации, позволяет провести целевое маркирование ценных свойств культуры, в частности накопление метаболитов у отдельных генотипов [39].

### 18.3. Род *Potentilla* L.

Род *Potentilla*, к которому большинство систематиков относят курильский чай кустарниковый, является довольно сложным в систематическом отношении, что связано с его широким распространением, нередкими случаями апомиксиса, полиплоидизации и отдаленной гибридизации [40–42]. Род разделен на несколько секций, внутри которых таксономические отношения запутаны. Использование морфологических признаков для систематики этого рода затруднено из-за их большой изменчивости, конвергенции и проблемы выбора морфологических признаков для сравнения [40, 41]. Вид *P. fruticosa* (Syn: *Dasiphora floribunda* Pursh, *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz.) широко распространен в Европе, на Дальнем Востоке и в Северной Америке, является декоративным растением. Выбор объекта в первую очередь обусловлен его практической ценностью, использованием в декоративных и лекарственных целях. Этим же объясняется масштабная селекционная работа, проводимая с этой культурой, которая привела к существующему разнообразию сортов (более 160) [43]. В ЦБС НАН Беларуси с 1980 г. проводится селекция курильского чая с использованием методов радиационного мутагенеза и направленным отбором ценных образцов. Результатом данной работы является коллекция форм, ряд из которых получили статус сортов. Вопросу применения молекулярно-генетических маркеров при изучении систематики, филогении и исторической биогеографии рода *Potentilla* посвящен ряд исследований в различных европейских странах [42, 44, 45], которые помогли нам при выборе методов исследования и маркирующих праймеров, так как на момент проведения исследований не было данных по внутривидовой генетической паспортизации сортов *Potentilla fruticosa* L.

Изначально для работы было отобрано 8 RAPD-праймеров и 6 ISSR-праймеров, но после предварительной проверки праймеры ОРА-11 и ОРХ-08 были исключены из дальнейшей работы, так как либо вовсе не давали ПЦР-продуктов, либо получаемые маркеры были малочисленными и невоспроизводимыми. Таким образом, для паспортизации коллекции были использованы 6 RAPD- и 6 ISSR-праймеров. На основе полученных данных были построены дендрограммы, отражающие результаты кластерного анализа UPGMA (рис. 18.5).

Совместное использование двух методов маркирования (RAPD и ISSR) позволило провести достаточно тщательное и разностороннее изучение генетического разнообразия коллекции курильского чая ЦБС НАН Беларуси. Данные,



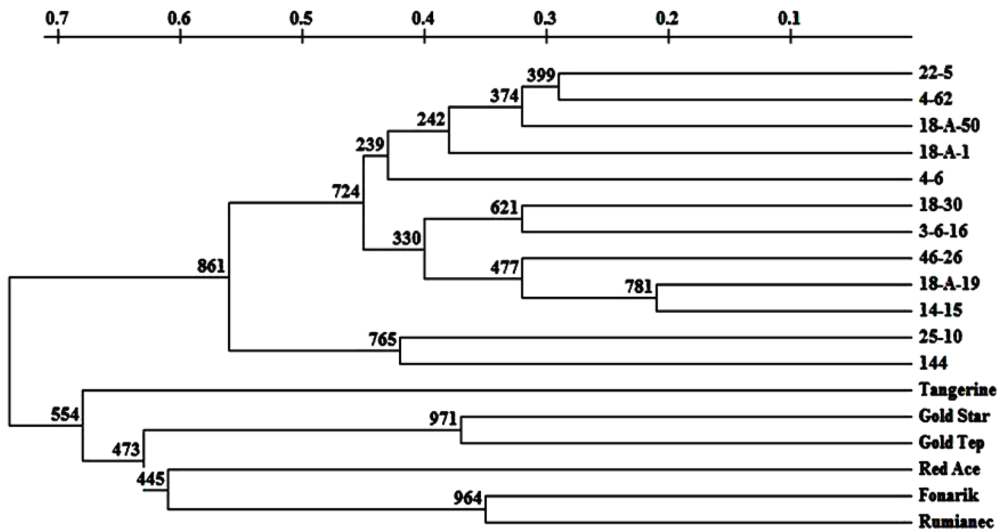


Рис. 18.5. RAPD + ISSR-дендрограмма на основе UPGMA-анализа, отражающая степень генетического сходства между формами и сортами *P. fruticosa*. Горизонтальная шкала – относительное генетическое расстояние между формами. В точках разветвления указаны результаты бутстреп-анализа (100 реплик)

полученные при паспортизации форм Фонарик и Румянец, сортов Gold Star, Gold Tepich и Red Ace двумя методами, не имели достоверно высокого коэффициента корреляции (0,58 при уровне значимости менее 0,05), при этом был отмечен одинаковый характер кластеризации всех пяти образцов.

Наблюдаемые различия данных, полученные при паспортизации всей коллекции двумя маркерными системами, объясняются разным распределением локусов, идентифицируемых RAPD- и ISSR-маркерами по геному: если RAPD-ампликоны распределены относительно равномерно, то ISSR-ампликоны ассоциированы с участками микросателлитной ДНК, характер изменчивости которой имеет свои особенности. В целом генотипирование коллекции *P. fruticosa* ЦБС с использованием произвольных и микросателлитных маркеров позволило повысить разрешающую способность обоих методов.

Разработанные для форм курильского чая селекции ЦБС генетические паспорта были использованы для дальнейшей идентификации и патентования особо ценных форм, что явилось особенно важным для зарегистрированных сортов Румянец и Фонарик селекции ЦБС НАН Беларуси, а также поддержания всей коллекции данной ценной декоративной и лекарственной культуры (табл. 18.3).

На основании полученных данных сделаны детальные заключения о генетических различиях исследованных форм, которые являются весьма ценными для дальнейшего процесса селекции. Таким образом, проведенные исследования показывают принципиальную возможность совместного применения RAPD- и ISSR-маркеров для точного и достоверного генотипирования сортов курильского чая. Проведенное RAPD- и ISSR-маркирование предоставило серьезные дополнительные аргументы в пользу выделения форм Фонарик и Румянец в самостоятельные сорта [46].

Таблица 18.3. Мультилокусные генетические паспорта сортов курильского чая селекции ЦБС НАН Беларуси

Сорт	Праймер/Локус				
	ОРА-05	ОРС-02	ОПD-08	ОПG-08	ОПХ-08
Фонарик	<b>ОРА05</b> <sub>364*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>553*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>669*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>954*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>1096*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>1355</sub>	<b>ОРС02</b> <sub>720*</sub> , <b>ОРС02</b> <sub>1100</sub>	<b>ОПD08</b> <sub>425*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>555*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>625*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>1040*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>1560</sub>	<b>ОПG08</b> <sub>540*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>700*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>840</sub>	<b>ОПХ08</b> <sub>541*</sub> , <b>ОПХ08</b> <sub>714*</sub> , <b>ОПХ08</b> <sub>958</sub>
Румянец	<b>ОРА05</b> <sub>880*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>1300*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>1400*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>1800*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>2500</sub>	—	<b>ОПD08</b> <sub>340*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>1030*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>1340*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>1560</sub>	<b>ОПG08</b> <sub>300*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>360*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>470*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>840*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>990*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>1600</sub>	—
Снежинка (36–16)	<b>ОРА05</b> <sub>553*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>613*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>740*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>830*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>954*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>1096*</sub> , <b>ОРА05</b> <sub>1355</sub>	<b>ОРС02</b> <sub>720*</sub> , <b>ОРС02</b> <sub>1775*</sub> , <b>ОРС02</b> <sub>1970</sub>	<b>ОПD08</b> <sub>505*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>915*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>1030*</sub> , <b>ОПD08</b> <sub>1560</sub>	<b>ОПG08</b> <sub>360*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>540*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>670*</sub> , <b>ОПG08</b> <sub>934</sub>	<b>ОПХ08</b> <sub>620*</sub> , <b>ОПХ08</b> <sub>714*</sub> , <b>ОПХ08</b> <sub>958</sub>

Примечание. Жирным шрифтом обозначены сортоспецифические (уникальные) локусы; подчеркнуты локусы, встречающиеся у всех вовлеченных в исследование сортов.

#### 18.4. Род *Trigonella* L.

Пажитник (*Trigonella* L.) – распространенный род семейства *Fabaceae* Lindl. Наиболее известными видами данного рода являются *T. foenum-graecum* L., *T. caerulea* L., *T. polycerata* L., поэтому для данных видов проводили молекулярно-генетическую паспортизацию. В качестве объектов исследования служили виды *Trigonella polycerata*, *T. caerulea*, сорта *T. foenum-graecum* Ovary Gold, Ovary 4, Ghahkamon, Obanos, Blidet, 19X, Chiadoncha, H-26, Gers, D19, Metha и линия PSZ.G.SZ.

К настоящему времени с помощью ДНК-технологий были идентифицированы представители отдельных родов внутри сем. *Fabaceae*, таких как *Trigonella*, *Phaseolus*, *Glycine*, *Cicer*, *Cajanus*, *Lathyrus*, *Lupinus* [47]. Также с помощью RAPD-, ISSR-, RFLP- маркеров изучены отдельные виды растений рода *Trigonella* (*T. foenum-graecum*, *T. caerulea*, *T. polycerata*, *T. cylindraceae*). На основании полученных данных было построено дерево генетического родства между данными видами, которое показало, что *T. polycerata*, *T. cylindraceae* вошли в один кластер, а *T. foenum-graecum* формирует отдельный [48, 49]. Кроме того, учеными с использованием ДНК-маркеров был проведен анализ популяций *T. foenum-graecum*, произрастающих в различных географических регионах (Турция, Австралия, США, Испания, Тунис) [49–51].

Однако до настоящего времени никто не проводил молекулярно-генетических исследований культурно возделываемых сортов пажитника греческого (*T. foenum-graecum*). До сих пор для сортов этого вида не были составлены генетические паспорта, поэтому использование ДНК-технологий для идентификации разных сортов *T. foenum-graecum* является актуальным.

В ходе проделанной работы была оптимизирована методика выделения тотальной ДНК из листового материала пажитника греческого, голубого и прямогого. Для ISSR-анализа использовали праймеры, состоящие из динуклеотидных мотивов с якорными нуклеотидами на 3'-конце, для RAPD-анализа – десятину-

Таблица 18.4. Характеристика праймеров, используемых для генотипирования коллекции видов рода *Trigonella*

Праймер	Тип	Диапазон длин фрагментов, п. о.	Число маркеров, шт.	Число полиморфных маркеров, шт.	Процент полиморфных маркеров, %
UBC-840	ISSR	91–900	24	16	67
UBC-807	ISSR	223–829	27	22	81
OPN-09	RAPD	313–1268	25	19	76
OPJ-07	RAPD	263–832	17	13	76

клеотидные праймеры с произвольной последовательностью. Всего было проанализировано 13 RAPD- и 10 ISSR-праймеров, из них было отобрано по 2 праймера каждого вида, которые соответствовали следующим правилам: давали наибольшее количество амплификонов (более 17) и имели высокий уровень полиморфизма (более 50%). В табл. 18.4 приведены показатели информативности праймеров, использованных для генотипирования исследуемых видов рода *Trigonella*.

На рис. 18.6 представлена электрофореграмма геномной ДНК сортов пажитника греческого при амплификации с праймерами UBC 807. В спектрах обнаружены полосы, мономорфные для всех сортов, а также набор полиморфных фрагментов.

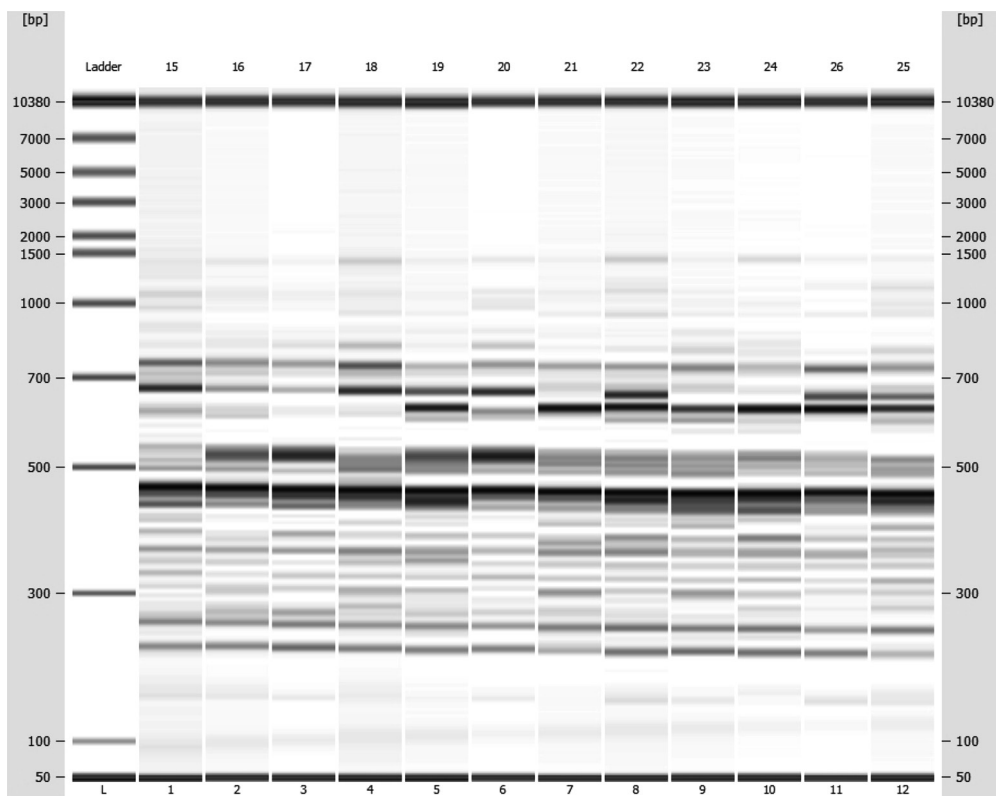


Рис. 18.6. Электрофореграмма сортов *T. foenum-graecum*, полученная при использовании праймера UBC-807: L – маркеры размеров ДНК; 1 – Ovary 4; 2 – Ovary Gold; 3 – PSZ.G.SZ; 4 – Mehta; 5 – H-26; 6 – 19X; 7 – Chiadoncha; 8 – Obanos; 9 – D19; 10 – Ghahkamon; 11 – Blidet; 12 – Gers

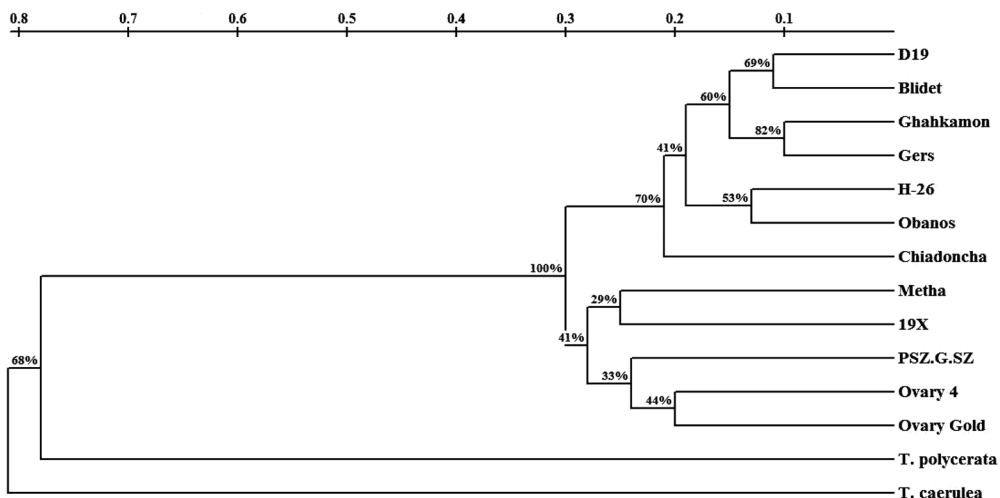


Рис. 18.7. Консенсусная RAPD + ISSR-дендрогамма, отражающая степень генетической дифференциации видов и сортов рода *Trigonella*. Горизонтальная шкала – относительное генетическое расстояние между формами. В точках разветвления указаны результаты бутстреп-анализа (100 реплик)

На основании значений коэффициентов генетической дистанции Неи, используя невзвешенный парно-групповой метод кластерного анализа (UPGMA), была построена консенсусная RAPD + ISSR-дендрогамма (рис. 18.7), отражающая степень генетического родства/различия между сортами *T. foenum-graecum*, *T. caerulea* и *T. polycerata*, полученная на основании 93 маркеров, сгенерированными праймерами OPJ-07, OPN-09, UBC 807 и UBC 840.

Из рис. 18.7 видно, что сорта Ovary 4 и Ovary Gold формируют отдельный кластер. Данные семена были получены из Венгрии и, возможно, в их селекции использовался идентичный исходный материал. Сорта Ghahkamon, Gers, D19, Blidet, Obanos, H-26, Chiadoncha образуют единый метакластер. Следует отметить, что *T. polycerata* находится в более тесном родстве с *T. foenum-graecum*, чем *T. caerulea*.

В целом составленная UPGMA-карта может стать ценной базой для проведения дальнейших исследований генетического материала и успешной селекционной работы. На основании полученных данных можно заключить, что исследованные сорта *T. foenum-graecum*, *T. caerulea* и *T. polycerata* различаются между собой на основании выявленных RAPD- и ISSR-локусов, что позволило паспортизовать коллекцию пажитников ЦБС НАН Беларуси. В табл. 18.5 представлены генетические паспорта исследуемых сортов *T. foenum-graecum*, *T. caerulea* и *T. polycerata*.

Таким образом, разработана система идентификации и ДНК-паспортизации генотипов видов *T. caerulea* и *T. polycerata* и сортов *T. foenum-graecum*. Был подобран комплекс из двух RAPD и двух ISSR-маркеров, позволяющих при постановке ПЦР охватить различные области генома, достаточные для идентификации сортов. Представлена система регистрации генотипов сортов *T. foenum-graecum*



Сорт/генотип	Праймер/покус			
	OPJ-07	OPN-09	UBC-807	UBC-840
D19	OPJ-07 <sup>2,63</sup> · OPJ-07 <sup>440</sup> ·	OPN-09 <sup>327</sup> · OPN-09 <sup>374</sup> · OPN-09 <sup>412</sup> ·	UBC-807 <sup>223</sup> · UBC-807 <sup>254</sup> · UBC-807 <sup>303</sup> ·	UBC-840 <sup>91</sup> · UBC-840 <sup>157</sup> · UBC-840 <sup>167</sup> ·
	OPJ-07 <sup>502</sup> · OPJ-07 <sup>567</sup> ·	OPN-09 <sup>481</sup> · OPN-09 <sup>503</sup> · OPN-09 <sup>575</sup> ·	UBC-807 <sup>366</sup> · UBC-807 <sup>390</sup> · UBC-807 <sup>407</sup> ·	UBC-840 <sup>96</sup> · UBC-840 <sup>224</sup> · UBC-840 <sup>334</sup> ·
	OPJ-07 <sup>609</sup> · OPJ-07 <sup>637</sup> ·	OPN-09 <sup>613</sup> · OPN-09 <sup>635</sup> · OPN-09 <sup>654</sup> ·	UBC-807 <sup>462</sup> · UBC-807 <sup>494</sup> · UBC-807 <sup>607</sup> ·	UBC-840 <sup>251</sup> · UBC-840 <sup>297</sup> · UBC-840 <sup>320</sup> ·
	OPJ-07 <sup>693</sup> · OPJ-07 <sup>799</sup> ·	OPN-09 <sup>687</sup> · OPN-09 <sup>790</sup> · OPN-09 <sup>861</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>744</sup> ·	UBC-840 <sup>376</sup> · UBC-840 <sup>408</sup> · UBC-840 <sup>512</sup> ·
	OPJ-07 <sup>832</sup> ·	OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1268</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>819</sup> ·	UBC-840 <sup>560</sup> · UBC-840 <sup>851</sup> · UBC-840 <sup>900</sup> ·
	OPJ-07 <sup>2,63</sup> · OPJ-07 <sup>440</sup> ·	OPN-09 <sup>327</sup> · OPN-09 <sup>374</sup> · OPN-09 <sup>412</sup> ·	UBC-807 <sup>223</sup> · UBC-807 <sup>254</sup> · UBC-807 <sup>303</sup> ·	UBC-840 <sup>91</sup> · UBC-840 <sup>157</sup> · UBC-840 <sup>167</sup> ·
Blidet	OPJ-07 <sup>502</sup> · OPJ-07 <sup>567</sup> ·	OPN-09 <sup>481</sup> · OPN-09 <sup>503</sup> · OPN-09 <sup>635</sup> ·	UBC-807 <sup>366</sup> · UBC-807 <sup>390</sup> · UBC-807 <sup>407</sup> ·	UBC-840 <sup>185</sup> · UBC-840 <sup>224</sup> · UBC-840 <sup>234</sup> ·
	OPJ-07 <sup>609</sup> · OPJ-07 <sup>637</sup> ·	OPN-09 <sup>668</sup> · OPN-09 <sup>687</sup> · OPN-09 <sup>790</sup> ·	UBC-807 <sup>447</sup> · UBC-807 <sup>462</sup> · UBC-807 <sup>494</sup> ·	UBC-840 <sup>251</sup> · UBC-840 <sup>276</sup> · UBC-840 <sup>297</sup> ·
	OPJ-07 <sup>693</sup> · OPJ-07 <sup>784</sup> ·	OPN-09 <sup>861</sup> · OPN-09 <sup>984</sup> · OPN-09 <sup>1268</sup> ·	UBC-807 <sup>607</sup> · UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>688</sup> ·	UBC-840 <sup>320</sup> · UBC-840 <sup>308</sup> · UBC-840 <sup>420</sup> ·
	OPJ-07 <sup>832</sup> ·	OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1123</sup> ·	UBC-807 <sup>744</sup> · UBC-807 <sup>819</sup> ·	UBC-840 <sup>512</sup> · UBC-840 <sup>560</sup> · UBC-840 <sup>736</sup> ·
	OPJ-07 <sup>2,63</sup> · OPJ-07 <sup>440</sup> ·	OPN-09 <sup>327</sup> · OPN-09 <sup>374</sup> · OPN-09 <sup>412</sup> ·	UBC-807 <sup>223</sup> · UBC-807 <sup>254</sup> · UBC-807 <sup>280</sup> ·	UBC-840 <sup>91</sup> · UBC-840 <sup>157</sup> · UBC-840 <sup>167</sup> ·
	OPJ-07 <sup>502</sup> · OPJ-07 <sup>567</sup> ·	OPN-09 <sup>481</sup> · OPN-09 <sup>503</sup> · OPN-09 <sup>635</sup> ·	UBC-807 <sup>303</sup> · UBC-807 <sup>366</sup> · UBC-807 <sup>390</sup> ·	UBC-840 <sup>196</sup> · UBC-840 <sup>224</sup> · UBC-840 <sup>234</sup> ·
Glets	OPJ-07 <sup>609</sup> · OPJ-07 <sup>637</sup> ·	OPN-09 <sup>668</sup> · OPN-09 <sup>687</sup> · OPN-09 <sup>790</sup> ·	UBC-807 <sup>436</sup> · UBC-807 <sup>462</sup> · UBC-807 <sup>494</sup> ·	UBC-840 <sup>251</sup> · UBC-840 <sup>276</sup> · UBC-840 <sup>297</sup> ·
	OPJ-07 <sup>693</sup> · OPJ-07 <sup>784</sup> ·	OPN-09 <sup>861</sup> · OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1123</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>688</sup> · UBC-807 <sup>733</sup> ·	UBC-840 <sup>320</sup> · UBC-840 <sup>353</sup> · UBC-840 <sup>376</sup> ·
	OPJ-07 <sup>832</sup> ·	OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1268</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>819</sup> ·	UBC-840 <sup>512</sup> · UBC-840 <sup>560</sup> · UBC-840 <sup>736</sup> ·
	OPJ-07 <sup>2,63</sup> · OPJ-07 <sup>440</sup> ·	OPN-09 <sup>327</sup> · OPN-09 <sup>374</sup> · OPN-09 <sup>412</sup> ·	UBC-807 <sup>223</sup> · UBC-807 <sup>254</sup> · UBC-807 <sup>280</sup> ·	UBC-840 <sup>91</sup> · UBC-840 <sup>157</sup> · UBC-840 <sup>167</sup> ·
	OPJ-07 <sup>502</sup> · OPJ-07 <sup>567</sup> ·	OPN-09 <sup>481</sup> · OPN-09 <sup>503</sup> · OPN-09 <sup>635</sup> ·	UBC-807 <sup>303</sup> · UBC-807 <sup>366</sup> · UBC-807 <sup>390</sup> ·	UBC-840 <sup>196</sup> · UBC-840 <sup>224</sup> · UBC-840 <sup>234</sup> ·
	OPJ-07 <sup>609</sup> · OPJ-07 <sup>637</sup> ·	OPN-09 <sup>668</sup> · OPN-09 <sup>687</sup> · OPN-09 <sup>790</sup> ·	UBC-807 <sup>436</sup> · UBC-807 <sup>462</sup> · UBC-807 <sup>494</sup> ·	UBC-840 <sup>251</sup> · UBC-840 <sup>276</sup> · UBC-840 <sup>297</sup> ·
<i>T. caerulea</i>	OPJ-07 <sup>693</sup> · OPJ-07 <sup>784</sup> ·	OPN-09 <sup>861</sup> · OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1123</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>688</sup> · UBC-807 <sup>733</sup> ·	UBC-840 <sup>320</sup> · UBC-840 <sup>353</sup> · UBC-840 <sup>376</sup> ·
	OPJ-07 <sup>832</sup> ·	OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1268</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>819</sup> ·	UBC-840 <sup>512</sup> · UBC-840 <sup>560</sup> · UBC-840 <sup>736</sup> ·
	OPJ-07 <sup>2,63</sup> · OPJ-07 <sup>440</sup> ·	OPN-09 <sup>327</sup> · OPN-09 <sup>374</sup> · OPN-09 <sup>412</sup> ·	UBC-807 <sup>223</sup> · UBC-807 <sup>254</sup> · UBC-807 <sup>280</sup> ·	UBC-840 <sup>91</sup> · UBC-840 <sup>157</sup> · UBC-840 <sup>167</sup> ·
	OPJ-07 <sup>502</sup> · OPJ-07 <sup>567</sup> ·	OPN-09 <sup>481</sup> · OPN-09 <sup>503</sup> · OPN-09 <sup>635</sup> ·	UBC-807 <sup>303</sup> · UBC-807 <sup>366</sup> · UBC-807 <sup>390</sup> ·	UBC-840 <sup>196</sup> · UBC-840 <sup>224</sup> · UBC-840 <sup>234</sup> ·
	OPJ-07 <sup>609</sup> · OPJ-07 <sup>637</sup> ·	OPN-09 <sup>668</sup> · OPN-09 <sup>687</sup> · OPN-09 <sup>790</sup> ·	UBC-807 <sup>436</sup> · UBC-807 <sup>462</sup> · UBC-807 <sup>494</sup> ·	UBC-840 <sup>251</sup> · UBC-840 <sup>276</sup> · UBC-840 <sup>297</sup> ·
	OPJ-07 <sup>693</sup> · OPJ-07 <sup>784</sup> ·	OPN-09 <sup>861</sup> · OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1123</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>688</sup> · UBC-807 <sup>733</sup> ·	UBC-840 <sup>320</sup> · UBC-840 <sup>353</sup> · UBC-840 <sup>376</sup> ·
<i>T. polycerata</i>	OPJ-07 <sup>832</sup> ·	OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1268</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>819</sup> ·	UBC-840 <sup>512</sup> · UBC-840 <sup>560</sup> · UBC-840 <sup>736</sup> ·
	OPJ-07 <sup>2,63</sup> · OPJ-07 <sup>440</sup> ·	OPN-09 <sup>327</sup> · OPN-09 <sup>374</sup> · OPN-09 <sup>412</sup> ·	UBC-807 <sup>223</sup> · UBC-807 <sup>254</sup> · UBC-807 <sup>280</sup> ·	UBC-840 <sup>91</sup> · UBC-840 <sup>157</sup> · UBC-840 <sup>167</sup> ·
	OPJ-07 <sup>502</sup> · OPJ-07 <sup>567</sup> ·	OPN-09 <sup>481</sup> · OPN-09 <sup>503</sup> · OPN-09 <sup>635</sup> ·	UBC-807 <sup>303</sup> · UBC-807 <sup>366</sup> · UBC-807 <sup>390</sup> ·	UBC-840 <sup>196</sup> · UBC-840 <sup>224</sup> · UBC-840 <sup>234</sup> ·
	OPJ-07 <sup>609</sup> · OPJ-07 <sup>637</sup> ·	OPN-09 <sup>668</sup> · OPN-09 <sup>687</sup> · OPN-09 <sup>790</sup> ·	UBC-807 <sup>436</sup> · UBC-807 <sup>462</sup> · UBC-807 <sup>494</sup> ·	UBC-840 <sup>251</sup> · UBC-840 <sup>276</sup> · UBC-840 <sup>297</sup> ·
	OPJ-07 <sup>693</sup> · OPJ-07 <sup>784</sup> ·	OPN-09 <sup>861</sup> · OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1123</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>688</sup> · UBC-807 <sup>733</sup> ·	UBC-840 <sup>320</sup> · UBC-840 <sup>353</sup> · UBC-840 <sup>376</sup> ·
	OPJ-07 <sup>832</sup> ·	OPN-09 <sup>999</sup> · OPN-09 <sup>1268</sup> ·	UBC-807 <sup>632</sup> · UBC-807 <sup>819</sup> ·	UBC-840 <sup>512</sup> · UBC-840 <sup>560</sup> · UBC-840 <sup>736</sup> ·

в виде паспорта сорта, который отражает состав аллелей в локусах произвольных и микросателлитных последовательностей.

Предложенный метод ДНК-паспортизации обеспечивает возможность проверки соответствия сортов вида *Trigonella foenum-graecum* критериям отличимости, однородности и стабильности (ООС-тест). Он может быть применен при решении таких задач как защита авторских прав, определение соответствия сорта стандарту при закупке посадочного материала, для создания компьютерной базы данных ДНК-паспортов. Результаты исследований могут быть использованы в селекционном процессе.

### 18.5. Под *Syringa* L.

В создании коллекции сирени (*Syringa* L.) ЦБС НАН Беларуси вложен труд нескольких поколений ботаников-интродукторов: Н. В. Смольского, В. Ф. Бибиковой, Э. А. Бурой, Г. И. Матусевича, Н. В. Македонской. Сорта сирени белорусской селекции отличаются выразительностью и по праву включены в мировое наследие культуры [52]. Наряду с традиционными методами сохранения генетического разнообразия культуры сирени *ex situ* все большее значение приобретает применение клеточных биотехнологий, которые обеспечивают сохранение селекционных образцов прошлых лет, ускоренное получение и размножение новых ценных форм и линий декоративных культур с улучшенными признаками устойчивости к неблагоприятным факторам, повышенной продуктивностью.

Известно, что изменчивость среди растений, регенерированных *in vitro*, бывает очень высокой, поэтому немаловажным условием стабильного поддержания полученных микропоголов является контроль и сохранение стабильности генотипа. Такая работа уже начата при сравнении микроклонов, поддерживаемых в коллекциях разных ботанических садов Беларуси и России [53].

Сегодня коллекция сирени в учреждении включает 22 вида и более 250 сортов, в том числе 16 сортов собственной селекции. В коллекции *in vitro* поддерживается 66 сортов; на стадии получения стерильной культуры находится ряд уникальных сортов Л. А. Колесникова и новинки американской селекции, образцы с повышенным содержанием вторичных метаболитов (сирингина). Важной целью работ в данном направлении является введение всех сортов собственной селекции ЦБС в культуру *in vitro* как ценнейших объектов генетического разнообразия и национального наследия.

Систематизация и документирование коллекции сирени ЦБС НАН Беларуси начаты в 2002 г., к настоящему времени создана комплексная база данных коллекции сирени, включающая морфологическое описание генотипов, генетические и биохимические характеристики [54, 55]. Исходя из актуальных задач сохранения коллекции, была поставлена цель разработать эффективную маркерную RAPD + ISSR-систему для рода *Syringa* на внутривидовом уровне и применить ее для дифференциации и сертификации сортов сирени в коллекции, а также подтверждения или выяснения родословной сортов и филогенетических связей между ними.

В исследование были включены сорта сирени белорусской селекции и их родительские формы из *ex situ* и *in vitro* коллекций ЦБС, а также Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина РАН (всего 21 генотип). Данные о родословных исследованных 16 сортов белорусской селекции (не представлены) являлись важной основой для проведения исследований, но в ряде вопросов требуют уточнения.

Для комплексного мультилокусного RAPD- и ISSR-маркирования изначально на основе литературных данных и экспериментально были подобраны произвольные и микросателлитные праймеры, оптимально тестирующие внутривидовую изменчивость исследованных генотипов культуры: OPA-18, OPE-02 и OPP-09, UBC-808 и UBC-862. Зонды генерировали четкие воспроизводимые ампликоны, в том числе уникальные, и позволили отличить все генотипы. Характеристика ампликонов, генерируемых произвольными и микросателлитными праймерами, приведена в табл. 18.6.

**Таблица 18.6. Характеристика спектров ампликонов *Syringa* spp., генерируемых произвольными и микросателлитными праймерами**

Праймер	Последовательность нуклеотидов, 5'→3'	Число ампликонов		Уровень полиморфизма, %
		всего	полиморфных	
<i>RAPD-праймеры</i>				
OPA-18	AGGTGACCGT	17	14	82,35
OPE-02	GGTGCGGGAA	19	12	63,16
OPP-09	GTGGTCCGCA	15	12	80
<i>ISSR-праймеры</i>				
UBC-808	AGAGAGAGAGAGAGAGC	25	18	72
UBC-862	AGCAGCAGCAGCAGCAGC	17	11	64,71
Общее число		93	67	–
Среднее		18,6	13,4	72,04

Проведенный генетический анализ 21 сорта рода *Syringa* на основе 3 RAPD- и 2 ISSR-маркеров позволил сгенерировать 93 маркера, в том числе генотип-специфических, и на их основе дифференцировать все исследованные генотипы, разработать и составить уникальные профили для каждого из них, рассчитать генетические дистанции родства/отдаленности, обнаружить уникальные для ряда сортов маркеры.

На основании 51 RAPD- и 42 ISSR-маркеров были сгенерированы консенсусная RAPD + ISSR-дендрограмма, представленная на рис. 18.8, а также дендрограммы только на одном из типов маркеров – RAPD и ISSR (данные не приведены). Данные RAPD- и ISSR-генотипирования сортов выявили сходную степень родства изучаемых сортов: стержневая кластеризация в сгенерированных консенсусной (RAPD + ISSR), а также RAPD- или ISSR дендрограммах в целом сохраняется; дендрограммы обнаруживают небольшие отличия в субкластеризации некоторых сортов (данные не приведены).

Комплексный RAPD + ISSR-анализ данных позволил осуществить более тонкий анализ различий генотипов исследуемых образцов, уточнить генетиче-



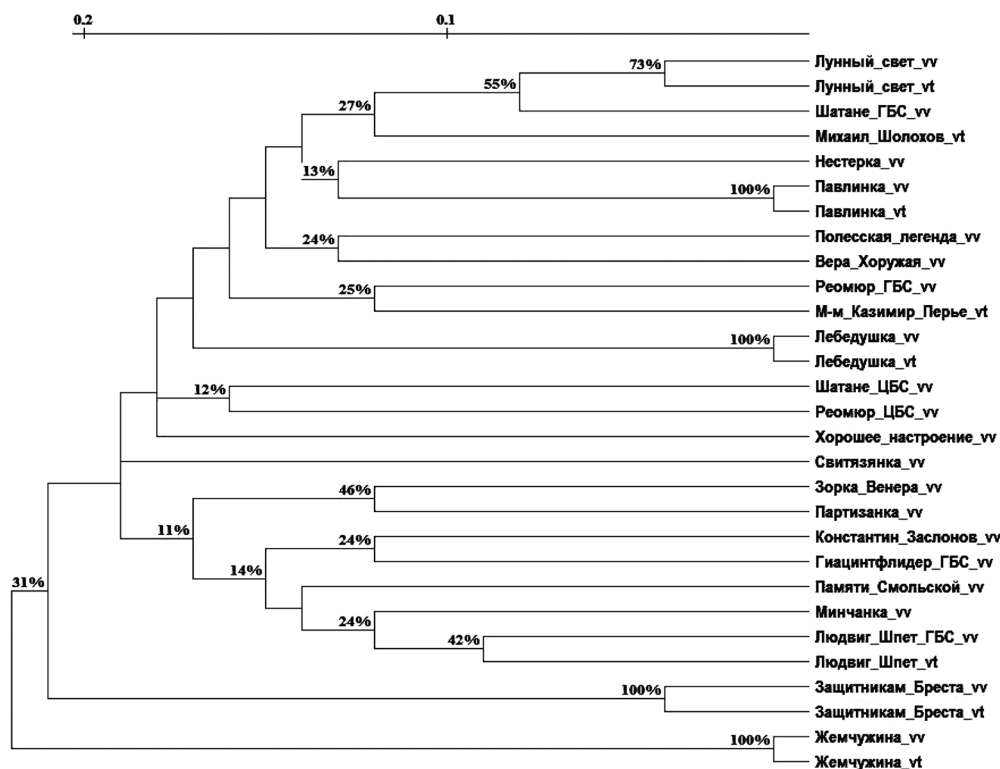


Рис. 18.8. Консенсусная RAPD + ISSR-дендрогрaмма, отражающая степень генетического сходства между сортами *Syringa* spp., из коллекций открытого грунта (vv) и *in vitro* (vt), полученная на основании 93 маркеров, сгенерированных праймерами ОРА-18, ОРЕ-02 и ОРР-09, UBC-808 и UBC-862. Величины бутстrep-анализа (100 реплик) указаны над соответствующей ветвью (%)

ские взаимосвязи исследуемых сортов сирени коллекции ЦБС. Использованный RAPD + ISSR-подход адаптирован для генетической сертификации генотипов *Syringa* spp. на внутривидовом уровне. На основании полученных RAPD/ISSR-спектров для 21 сорта сирени обыкновенной были составлены многолокусные паспорта. В табл. 18.7 приведены генетические паспорта сортов сирени белорусской селекции ЦБС НАН Беларуси.

Была получена топология генетической родственности для сортов белорусской селекции и их родительских форм. Также была проведена оценка соответствия генетической стабильности при размножении *in vitro*. Для всех изученных культуральных образцов – сортов Лунный свет, Павлинка, Лебедушка Людвиг Шпет, Защитникам Бреста и Жемчужина – было подтверждено соответствие материала, размножаемого в культуре *in vitro*, коллекционному материалу открытого грунта. Количественные параметры соответствия (генетические дистанции, данные не приведены) варьировали, что может объясняться возникновением допустимых генетических изменений (сомаклональной изменчивостью: мутациями, хромосомными нарушениями, а также возникновением полиплоидных клеток) в связи с различной реакцией генотипов на культивирование в условиях *in vitro*, а также длительностью пассажей.

Таблица 18.7. Мультиплокусные генетические паспорта сортов *Syringia vulgaris* селекции ЦБС (коллекция *in vivo*)

Сорт/Генотип	Праймер/Локус			
	ОРА-18	ОРЕ-02	ОРР-09	УВС-808
Полесская легенда	ОРА18 <sub>255</sub> <sup>355</sup>	ОРЕ02 <sub>260</sub> <sup>355</sup>	ОРР09 <sub>260</sub> <sup>365</sup>	УВС808 <sub>210</sub> <sup>250</sup>
	ОРА18 <sub>370</sub> <sup>395</sup>	ОРЕ02 <sub>415</sub> <sup>480</sup>	ОРР09 <sub>485</sub> <sup>535</sup>	УВС808 <sub>330</sub> <sup>355</sup>
	ОРА18 <sub>430</sub> <sup>590</sup>	ОРЕ02 <sub>495</sub> <sup>570</sup>	ОРР09 <sub>610</sub> <sup>645</sup>	УВС808 <sub>440</sub> <sup>455</sup>
	ОРА18 <sub>930</sub> <sup>1030</sup>	ОРЕ02 <sub>600</sub> <sup>890</sup>	ОРР09 <sub>665</sub> <sup>780</sup>	УВС808 <sub>825</sub> <sup>895</sup>
	ОРА18 <sub>1225</sub>	ОРЕ02 <sub>945</sub> <sup>1380</sup>	ОРР09 <sub>875</sub> <sup>980</sup>	УВС808 <sub>665</sub> <sup>700</sup>
				УВС808 <sub>885</sub> <sup>950</sup>
Лебедушка	ОРА18 <sub>255</sub> <sup>355</sup>	ОРЕ02 <sub>260</sub> <sup>315</sup>	ОРР09 <sub>260</sub> <sup>365</sup>	УВС808 <sub>250</sub> <sup>330</sup>
	ОРА18 <sub>370</sub> <sup>395</sup>	ОРЕ02 <sub>350</sub> <sup>440</sup>	ОРР09 <sub>485</sub> <sup>535</sup>	УВС808 <sub>355</sub> <sup>420</sup>
	ОРА18 <sub>430</sub> <sup>440</sup>	ОРЕ02 <sub>570</sub> <sup>775</sup>	ОРР09 <sub>610</sub> <sup>645</sup>	УВС808 <sub>455</sub> <sup>480</sup>
	ОРА18 <sub>475</sub> <sup>590</sup>	ОРЕ02 <sub>890</sub> <sup>1380</sup>	ОРР09 <sub>665</sub> <sup>780</sup>	УВС808 <sub>590</sub> <sup>700</sup>
	ОРА18 <sub>620</sub> <sup>930</sup>		ОРР09 <sub>875</sub> <sup>980</sup>	УВС808 <sub>810</sub> <sup>885</sup>
	ОРА18 <sub>960</sub> <sup>1030</sup>			УВС808 <sub>885</sub> <sup>950</sup>
Вера Хоружая	ОРА18 <sub>255</sub> <sup>355</sup>	ОРЕ02 <sub>260</sub> <sup>355</sup>	ОРР09 <sub>260</sub> <sup>365</sup>	УВС808 <sub>210</sub> <sup>250</sup>
	ОРА18 <sub>370</sub> <sup>395</sup>	ОРЕ02 <sub>415</sub> <sup>480</sup>	ОРР09 <sub>485</sub> <sup>535</sup>	УВС808 <sub>330</sub> <sup>355</sup>
	ОРА18 <sub>620</sub> <sup>930</sup>	ОРЕ02 <sub>495</sub> <sup>650</sup>	ОРР09 <sub>665</sub> <sup>780</sup>	УВС808 <sub>420</sub> <sup>455</sup>
	ОРА18 <sub>960</sub> <sup>1030</sup>	ОРЕ02 <sub>775</sub> <sup>945</sup>	ОРР09 <sub>875</sub> <sup>980</sup>	УВС808 <sub>480</sub> <sup>500</sup>
	ОРА18 <sub>1225</sub>	ОРЕ02 <sub>980</sub> <sup>1380</sup>		УВС808 <sub>595</sub> <sup>620</sup>
				УВС808 <sub>665</sub> <sup>700</sup>
Защитникам Бреста	ОРА18 <sub>255</sub> <sup>355</sup>	ОРЕ02 <sub>260</sub> <sup>315</sup>	ОРР09 <sub>260</sub> <sup>365</sup>	УВС808 <sub>210</sub> <sup>250</sup>
	ОРА18 <sub>370</sub> <sup>395</sup>	ОРЕ02 <sub>350</sub> <sup>440</sup>	ОРР09 <sub>485</sub> <sup>535</sup>	УВС808 <sub>330</sub> <sup>355</sup>
	ОРА18 <sub>430</sub> <sup>440</sup>	ОРЕ02 <sub>455</sub> <sup>495</sup>	ОРР09 <sub>610</sub> <sup>665</sup>	УВС808 <sub>440</sub> <sup>575</sup>
	ОРА18 <sub>475</sub> <sup>590</sup>	ОРЕ02 <sub>530</sub> <sup>650</sup>	ОРР09 <sub>780</sub> <sup>875</sup>	УВС808 <sub>700</sub> <sup>885</sup>
	ОРА18 <sub>960</sub> <sup>1225</sup>	ОРЕ02 <sub>775</sub> <sup>945</sup>	ОРР09 <sub>1350</sub> <sup>1485</sup>	УВС808 <sub>665</sub> <sup>700</sup>
		ОРЕ02 <sub>1380</sub>		УВС808 <sub>950</sub>
Павлинка	ОРА18 <sub>255</sub> <sup>355</sup>	ОРЕ02 <sub>260</sub> <sup>350</sup>	ОРР09 <sub>260</sub> <sup>365</sup>	УВС808 <sub>210</sub> <sup>250</sup>
	ОРА18 <sub>370</sub> <sup>395</sup>	ОРЕ02 <sub>355</sub> <sup>440</sup>	ОРР09 <sub>485</sub> <sup>535</sup>	УВС808 <sub>330</sub> <sup>355</sup>
	ОРА18 <sub>430</sub> <sup>475</sup>	ОРЕ02 <sub>455</sub> <sup>495</sup>	ОРР09 <sub>585</sub> <sup>610</sup>	УВС808 <sub>420</sub> <sup>455</sup>
				УВС808 <sub>665</sub> <sup>700</sup>
				УВС808 <sub>885</sub> <sup>950</sup>
				УВС808 <sub>950</sub>

	ОРА18 <sub>590*</sub> ОРА18 <sub>630*</sub> ОРА18 <sub>960*</sub> ОРА18 <sub>1030*</sub> ОРА18 <sub>1225</sub>	ОРЕ02 <sub>530*</sub> ОРЕ02 <sub>570*</sub> ОРЕ02 <sub>650*</sub> ОРЕ02 <sub>775*</sub> ОРЕ02 <sub>890*</sub> ОРЕ02 <sub>945*</sub> ОРЕ02 <sub>1380</sub>	ОПП09 <sub>945*</sub> ОПП09 <sub>665*</sub> ОПП09 <sub>780*</sub> ОПП09 <sub>875*</sub> ОПП09 <sub>1350</sub>	УВС808 <sub>480*</sub> УВС808 <sub>525*</sub> УВС808 <sub>365*</sub> УВС808 <sub>550*</sub> УВС808 <sub>595*</sub> УВС808 <sub>620*</sub> УВС808 <sub>665*</sub> УВС808 <sub>700*</sub> УВС808 <sub>730*</sub> УВС808 <sub>835*</sub> УВС808 <sub>885</sub>	УВС862 <sub>380*</sub> УВС862 <sub>650*</sub> УВС862 <sub>725*</sub> УВС862 <sub>960</sub>
Минчанка	ОРА18 <sub>555*</sub> ОРА18 <sub>370*</sub> ОРА18 <sub>410*</sub> ОРА18 <sub>430*</sub> ОРА18 <sub>440*</sub> ОРА18 <sub>590*</sub> ОРА18 <sub>960*</sub> ОРА18 <sub>1030*</sub> ОРА18 <sub>1225</sub>	ОРЕ02 <sub>260*</sub> ОРЕ02 <sub>250*</sub> ОРЕ02 <sub>355*</sub> ОРЕ02 <sub>415*</sub> ОРЕ02 <sub>455*</sub> ОРЕ02 <sub>480*</sub> ОРЕ02 <sub>530*</sub> ОРЕ02 <sub>570*</sub> ОРЕ02 <sub>650*</sub> ОРЕ02 <sub>775*</sub> ОРЕ02 <sub>890*</sub> ОРЕ02 <sub>945*</sub> ОРЕ02 <sub>1380</sub>	ОПП09 <sub>260*</sub> ОПП09 <sub>365*</sub> ОПП09 <sub>485*</sub> ОПП09 <sub>535*</sub> ОПП09 <sub>610*</sub> ОПП09 <sub>645*</sub> ОПП09 <sub>665*</sub> ОПП09 <sub>780*</sub> ОПП09 <sub>875*</sub> ОПП09 <sub>980*</sub> ОПП09 <sub>1350</sub>	УВС808 <sub>210*</sub> УВС808 <sub>250*</sub> УВС808 <sub>265*</sub> УВС808 <sub>330*</sub> УВС808 <sub>420*</sub> УВС808 <sub>440*</sub> УВС808 <sub>480*</sub> УВС808 <sub>525*</sub> УВС808 <sub>375*</sub> УВС808 <sub>895*</sub> УВС808 <sub>700*</sub> УВС808 <sub>730*</sub> УВС808 <sub>885*</sub> УВС808 <sub>950</sub>	УВС862 <sub>185*</sub> УВС862 <sub>270*</sub> УВС862 <sub>305*</sub> УВС862 <sub>335*</sub> УВС862 <sub>355*</sub> УВС862 <sub>375*</sub> УВС862 <sub>415*</sub> УВС862 <sub>450*</sub> УВС862 <sub>380*</sub> УВС862 <sub>650*</sub> УВС862 <sub>670*</sub> УВС862 <sub>725*</sub> УВС862 <sub>925</sub>
Зорка Венера	ОРА18 <sub>555*</sub> ОРА18 <sub>380*</sub> ОРА18 <sub>430*</sub> ОРА18 <sub>440*</sub> ОРА18 <sub>590*</sub> ОРА18 <sub>960*</sub> ОРА18 <sub>1030*</sub> ОРА18 <sub>1225</sub>	ОРЕ02 <sub>260*</sub> ОРЕ02 <sub>270*</sub> ОРЕ02 <sub>315*</sub> ОРЕ02 <sub>355*</sub> ОРЕ02 <sub>415*</sub> ОРЕ02 <sub>440*</sub> ОРЕ02 <sub>455*</sub> ОРЕ02 <sub>480*</sub> ОРЕ02 <sub>530*</sub> ОРЕ02 <sub>570*</sub> ОРЕ02 <sub>650*</sub> ОРЕ02 <sub>775*</sub> ОРЕ02 <sub>890*</sub> ОРЕ02 <sub>945*</sub> ОРЕ02 <sub>1380</sub>	ОПП09 <sub>260*</sub> ОПП09 <sub>365*</sub> ОПП09 <sub>485*</sub> ОПП09 <sub>535*</sub> ОПП09 <sub>610*</sub> ОПП09 <sub>665*</sub> ОПП09 <sub>875*</sub> ОПП09 <sub>980*</sub> ОПП09 <sub>1350</sub>	УВС808 <sub>210*</sub> УВС808 <sub>250*</sub> УВС808 <sub>265*</sub> УВС808 <sub>330*</sub> УВС808 <sub>355*</sub> УВС808 <sub>385*</sub> УВС808 <sub>420*</sub> УВС808 <sub>440*</sub> УВС808 <sub>480*</sub> УВС808 <sub>500*</sub> УВС808 <sub>595*</sub> УВС808 <sub>440*</sub> УВС808 <sub>665*</sub> УВС808 <sub>700*</sub> УВС808 <sub>730*</sub> УВС808 <sub>835*</sub> УВС808 <sub>885*</sub> УВС808 <sub>950</sub>	УВС862 <sub>185*</sub> УВС862 <sub>205*</sub> УВС862 <sub>270*</sub> УВС862 <sub>305*</sub> УВС862 <sub>335*</sub> УВС862 <sub>375*</sub> УВС862 <sub>415*</sub> УВС862 <sub>450*</sub> УВС862 <sub>380*</sub> УВС862 <sub>605*</sub> УВС862 <sub>650*</sub> УВС862 <sub>725*</sub> УВС862 <sub>925</sub>
Партизанка	ОРА18 <sub>555*</sub> ОРА18 <sub>370*</sub> ОРА18 <sub>395*</sub> ОРА18 <sub>430*</sub> ОРА18 <sub>440*</sub> ОРА18 <sub>590*</sub> ОРА18 <sub>1030*</sub> ОРА18 <sub>1225</sub>	ОРЕ02 <sub>260*</sub> ОРЕ02 <sub>315*</sub> ОРЕ02 <sub>355*</sub> ОРЕ02 <sub>415*</sub> ОРЕ02 <sub>440*</sub> ОРЕ02 <sub>455*</sub> ОРЕ02 <sub>480*</sub> ОРЕ02 <sub>495*</sub> ОРЕ02 <sub>570*</sub> ОРЕ02 <sub>650*</sub> ОРЕ02 <sub>775*</sub> ОРЕ02 <sub>890*</sub> ОРЕ02 <sub>945*</sub> ОРЕ02 <sub>1380</sub>	ОПП09 <sub>260*</sub> ОПП09 <sub>365*</sub> ОПП09 <sub>485*</sub> ОПП09 <sub>535*</sub> ОПП09 <sub>610*</sub> ОПП09 <sub>665*</sub> ОПП09 <sub>875*</sub> ОПП09 <sub>1350</sub>	УВС808 <sub>210*</sub> УВС808 <sub>250*</sub> УВС808 <sub>265*</sub> УВС808 <sub>330*</sub> УВС808 <sub>355*</sub> УВС808 <sub>385*</sub> УВС808 <sub>420*</sub> УВС808 <sub>440*</sub> УВС808 <sub>455*</sub> УВС808 <sub>480*</sub> УВС808 <sub>525*</sub> УВС808 <sub>500*</sub> УВС808 <sub>595*</sub> УВС808 <sub>665*</sub> УВС808 <sub>700*</sub> УВС808 <sub>885</sub>	УВС862 <sub>185*</sub> УВС862 <sub>205*</sub> УВС862 <sub>270*</sub> УВС862 <sub>305*</sub> УВС862 <sub>335*</sub> УВС862 <sub>375*</sub> УВС862 <sub>415*</sub> УВС862 <sub>450*</sub> УВС862 <sub>380*</sub> УВС862 <sub>650*</sub> УВС862 <sub>725*</sub> УВС862 <sub>925</sub>
Памяти Смольской	ОРА18 <sub>555*</sub> ОРА18 <sub>370*</sub> ОРА18 <sub>410*</sub> ОРА18 <sub>430*</sub> ОРА18 <sub>440*</sub> ОРА18 <sub>590*</sub> ОРА18 <sub>620*</sub> ОРА18 <sub>960*</sub> ОРА18 <sub>1225</sub>	ОРЕ02 <sub>260*</sub> ОРЕ02 <sub>270*</sub> ОРЕ02 <sub>315*</sub> ОРЕ02 <sub>350*</sub> ОРЕ02 <sub>355*</sub> ОРЕ02 <sub>415*</sub> ОРЕ02 <sub>455*</sub> ОРЕ02 <sub>480*</sub> ОРЕ02 <sub>530*</sub> ОРЕ02 <sub>570*</sub> ОРЕ02 <sub>650*</sub> ОРЕ02 <sub>775*</sub> ОРЕ02 <sub>845*</sub> ОРЕ02 <sub>890*</sub> ОРЕ02 <sub>945*</sub> ОРЕ02 <sub>1380</sub>	ОПП09 <sub>260*</sub> ОПП09 <sub>365*</sub> ОПП09 <sub>485*</sub> ОПП09 <sub>535*</sub> ОПП09 <sub>610*</sub> ОПП09 <sub>665*</sub> ОПП09 <sub>780*</sub> ОПП09 <sub>875*</sub> ОПП09 <sub>980*</sub> ОПП09 <sub>1350</sub>	УВС808 <sub>210*</sub> УВС808 <sub>250*</sub> УВС808 <sub>265*</sub> УВС808 <sub>330*</sub> УВС808 <sub>355*</sub> УВС808 <sub>385*</sub> УВС808 <sub>420*</sub> УВС808 <sub>440*</sub> УВС808 <sub>455*</sub> УВС808 <sub>525*</sub> УВС808 <sub>550*</sub> УВС808 <sub>595*</sub> УВС808 <sub>840*</sub> УВС808 <sub>665*</sub> УВС808 <sub>810*</sub> УВС808 <sub>885*</sub> УВС808 <sub>950</sub>	УВС862 <sub>185*</sub> УВС862 <sub>205*</sub> УВС862 <sub>270*</sub> УВС862 <sub>305*</sub> УВС862 <sub>335*</sub> УВС862 <sub>355*</sub> УВС862 <sub>375*</sub> УВС862 <sub>415*</sub> УВС862 <sub>450*</sub> УВС862 <sub>580*</sub> УВС862 <sub>650*</sub> УВС862 <sub>725*</sub> УВС862 <sub>925</sub>

Интересны данные о степени генетической родственности с родительскими формами. В частности, сорта Лунный свет, Вера Хоружая, Лебедушка, Павлинка, которые являются результатом скрещивания французских сортов Реомюр и Шатане (Абель Шатане), кластеризуются в дендрограмме с этими родительскими формами. При этом получены данные о несоответствии генотипов Шатане и Реомюр из коллекций ГБС и ЦБС соответственно.

Разработанная методическая схема молекулярно-генетического документирования коллекционного материала сирени является эффективным способом молекулярной сертификации культурных форм сирени, выяснения спорных моментов при поддержании коллекции и размножении генотипов, исследования истории селекционного процесса. Она будет предложена как основа единых требований к держателям коллекций разных ботанических садов, в частности, для коллекций *in vitro*.

Примененное комплексное RAPD + ISSR-генотипирование сортов сирени коллекции ЦБС НАН Беларуси позволило провести первичную верификацию коллекции, дифференцировать и сертифицировать все исследованные генотипы сирени белорусской селекции (разработать генотипические сертификаты), подтвердить данные о родословной сортов, уточнить филогенетические связи между ними. Проведенная генетическая сертификация коллекции меристемных культур редких сортов собственной и зарубежной селекции, а также таксонов сирени с высоким содержанием синингина, является основой для маркирования хозяйственно ценных признаков, поиска генов биосинтеза ценных метаболитов культуры сирени при разработке технологии получения биомассы клеток для фармацевтического использования [56].

Работа с генетическими ресурсами хозяйственно ценных видов растений и их форм ЦБС НАН Беларуси проводится на различных уровнях: создания коллекции открытого грунта (таксоны), гербария, семенотеки или банка семян, активной рабочей коллекции, создания *in vitro* коллекции клеток и тканей, ДНК-коллекции с последующим биохимическим анализом и молекулярно-генетическим типированием особо ценных образцов (схема представлена на рис. 18.9).

Нами предложен комплексный подход, основанный на ПЦР с использованием произвольных (RAPD) и микросателлитных (ISSR) праймеров для оценки генетического разнообразия, паспортизации сортов хозяйственно ценных ботанических коллекций ЦБС НАН Беларуси. Разработаны специфические маркеры для создания уникальных генотипических профилей, на основе которых созданы паспорта ценных сортов следующих ботанических коллекций ЦБС НАН Беларуси: *Vaccinium* L., *Amaranthus* L., *Potentilla* L., *Syringa* L. и *Trigonella* L. Уникальные наборы ампликонов (генотипические паспорта) позволяют дифференцировать генотипы культур (сорта, формы, виды), а эталонные спектры – проводить верификацию образцов коллекций на соответствие генотипу сорта. Сортоспецифические маркеры совместно с детальной характеристикой ряда биохимических параметров предоставляют перспективу поиска доноров ценных аллелей хозяйственно значимых генов, в том числе генов биосинтеза вторичных метаболитов (алкалоидов, фенолов, терпенов и др.).



Рис. 18.9. Работа с генетическими ресурсами хозяйственно ценных видов растений и их форм в ЦБС НАН Беларуси

Таким образом, с применением современных молекулярно-генетических методов создана комплексная научно обоснованная схема поддержания, сохранения и изучения образцов репрезентативных коллекций растительных ресурсов ЦБС НАН Беларуси, которые являются частью национального и глобального биологического разнообразия, основой проведения широкого спектра научных исследований, реализации образовательных программ. Полученные данные по ДНК-типированию образцов хозяйственно ценных коллекций включены в отдельный раздел «Биохимические паспорта» информационно-поисковой системы *Hortus Botanicus Centralis – Info* (№ ГР 20053449 от 14.11.2005). Они служат источником данных для сайтов «Ботанические коллекции Беларуси» (<http://hbc.bas-net.by/bcb>) и разделов портала Совета ботанических садов России, Беларуси и Казахстана (<http://hortusbotanicus.ru>), что дает основу для расширения сотрудничества и информационного обмена в целях сохранения биоразнообразия.

## Литература

1. *Модельный закон о сохранении генетических ресурсов культурных растений и их рациональном использовании*: постановление Межпарламентской Ассамблеи государств – участников СНГ № 33-8 от 3 дек. 2009 г. // Межпарламентская Ассамблея государств – участников СНГ. 33-е пленарное заседание.
2. *DNA banking for plant breeding, biotechnology and biodiversity evaluation* / T. R. Hodkinson [et al.] // *J. Plant Res.* – 2007. – Vol. 120. – P. 17–29.
3. *Karp, A. Molecular techniques in the assessment of botanical diversity* / A. Karp, O. Seberg, M. Buiatti // *Ann. Bot.* – 1996. – Vol. 78. – P. 143–149; *Molecular markers and ex situ conservation of the European elms (Ulmus spp.)* / W. P. Goodall-Copestake [et al.] // *Biol. Conservation.* – 2005. – Vol. 122, № 4. – P. 537–546.
4. *Молекулярные маркеры – инструмент исследования генетического разнообразия* // В: Современное состояние управления генетическими ресурсами животных. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства / Комиссия по генетическим ресурсам в сфере продовольствия и сельского хозяйства. Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций. – Рим; Москва, 2010. – С. 359–380.

5. *Spooner, D.* Molecular markers for gene bank management / D. Spooner, R. van Treuren, M. C. de Vicente // *IPGRI Techn. Bull.* – 2005. – Vol. 10. – P. 136.
6. *Ford-Lloyd, B.* Measuring genetic variation using molecular markers / B. Ford-Lloyd, K. Painting. – Rome, 1996. – 72 p.
7. *Глазко, В. И.* Генетика изоферментов животных и растений / В. И. Глазко, И. А. Созинов; под ред. А. А. Созинова. – Киев, 1993. – 528 с.
8. *Lewontin, R. C.* A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of *Drosophila pseudoobscura* / R. C. Lewontin, J. L. Hubby // *Genetics.* – 1966. – Vol. 54. – P. 595–609.
9. *Molecular genetic markers: discovery, applications, data storage and visualisation* / C. Duran [et al.] // *Curr. Bioinformatics.* – 2009. – Vol. 4. – P. 16–27.
10. *Гостимский, С. А.* Использование молекулярных маркеров для анализа генома растений / С. А. Гостимский, З. Г. Кокаева, В. К. Боброва // *Генетика.* – 1999. – Т. 35, № 11. – С. 1538–1549.
11. *Which DNA marker for which purpose.* Final compendium of the research project development, optimisation and validation of molecular tools for assessment of biodiversity in forest trees in the European Union / URL; E. M. Gillet (lead.), DGXII Biotechnology FW IV Research Programme Molecular Tools for Biodiversity. – Frankfurt, 1999. – 253 p.
12. *Генетические взаимоотношения между сортами сои, оцененные с использованием ISSR маркеров* / В. И. Глазко [и др.] // *Цитология и генетика.* – 1999. – Т. 33, № 5.
13. *Мальшев, С. В.* Идентификация и паспортизация сортов сельскохозяйственных культур (мягкой пшеницы, картофеля, томата, льна и свеклы) на основе ДНК-маркеров: метод. рекоменд. / С. В. Мальшев, О. Ю. Урбанович, Н. А. Картель. – Минск, 2006. – 28 с.
14. *Молекулярно-генетическая паспортизация коллекций древесно-кустарниковых растений: преимущества биоанализатора Agilent 2100* / Е. В. Спиридович [и др.] // *Проблемы лесоведения и лесоводства: сб. науч. тр. – Гомель, 2009. – Вып. 69. – С. 308–313.*
15. *Сиволап, Ю. М.* Преобразование геномов. Специфичность генома и селекция растений / Ю. М. Сиволап // *Жебраковские чтения IV / Ин-т генетики и цитологии НАН Беларуси; отв. ред. А. В. Кильчевский. – Минск, 2013. – 32 с.*
16. *Highbush blueberry: cultivation, protection, breeding and biotechnology* / D. Prodorutti [et al.] // *Eur. J. Plant Sci. Biotech.* – 2007. – Vol. 1, № 1. – P. 44–56.
17. *Курлович, Т. В.* Голубика высокорослая в Беларуси / Т. В. Курлович, В. Н. Босак. – Минск, 1998. – 176 с.
18. *Application of DNA fingerprinting in plant science* / K. Weising [et al.] // *DNA fingerprinting in plants: principles, methods, and applications.* – Boca Raton (FL), 2005. – P. 235–276.
19. *Levi, A.* Production of reliable randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers from DNA of woody plants / A. Levi, L. J. Rowland, J. S. Hartung // *Plant genetics and breeding.* – 1993. – Vol. 28, № 12. – P. 1188–1190.
20. *Burgher, K. L.* Genetic relationships among lowbush blueberry genotypes as determined by randomly amplified polymorphic DNA analysis / K. L. Burgher, A. R. Jamieson, X.-V. Lu // *J. Am. Soc. Hortic. Science.* – 2002. – Vol. 127. – P. 98–103.
21. *Debnath, S. C.* Differentiation of *Vaccinium* cultivars and wild clones using RAPD markers / S. C. Debnath // *J. Plant Biochem. Biotechnol.* – 2005. – Vol. 14. – P. 173–177.
22. *Identification of blueberry varieties using random amplified polymorphic DNA markers* / P. Arce-Johnson [et al.] // *Acta Hort. (ISHS).* – 2002. – Vol. 574. – P. 221–224.
23. *Rowland, L. J.* RAPD-based genetic linkage map of blueberry derived from a cross between diploid species (*Vaccinium darrowi* and *V. elliotii*) / L. J. Rowland, A. Levi // *Theor. Appl. Genetics.* – 1994. – Vol. 87, № 7. – P. 863–868.
24. *Boches, P. S.* Microsatellite markers for *Vaccinium* from EST and genomic libraries / P. S. Boches, N. V. Bassil, L. J. Rowland // *Mol. Ecol. Notes.* – 2005. – Vol. 5. – P. 657–660.
25. *Bassil, N.* Blueberry microsatellite markers identify cranberry cultivars / N. Bassil, A. Oda, K. E. Hummer // *Acta Hort. (ISHS).* – 2009. – Vol. 810. – P. 181–187.
26. *Antioxidant capacity is influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of Vaccinium species* / R. I. Prior [et al.] // *J. Agric. Food Chem.* – 1998. – Vol. 46. – P. 2686–2693.

27. Nei, M. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases / M. Nei, W.-H. Li // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1979. – Vol. 76. – P. 5269–5273.
28. Сертифікація сортів голубики високої (*Vaccinium corymbosum* L.), районированих в Беларусі, на основе RAPD- и ISSR-маркерів / А. Б. Власова [и др.] // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 203–210.
29. RAPD- и ISSR-генотипирование как метод верификации in vitro коллекции сортов голубики высокой (*Vaccinium corymbosum*) / А. Б. Власова [и др.] // Материалы Междунар. науч. конф. посвящ. 45-летию основания Ин-та генетики и цитологии НАН Беларусі, 25–29 окт. 2010 г. – Минск, 2010. – С. 38.
30. Staub, J. E. Plant Variety Protection: a consideration of genetic relationship / J. E. Staub, A. Gabert, T. C. Wehner // Hort Science. – 1996. – Vol. 31. – P. 1086–1091.
31. Application of DNA fingerprinting in plant science // DNA fingerprinting in plants: principles, methods, and applications / K. Weising [et al.] (eds.). – CRC Press, 2005. – P. 235–276.
32. Chan, K. F. Genetic diversity and relationships detected by isozyme and RAPD analysis of crop and wild species of *Amaranthus* / K. F. Chan, M. Sun // Theor. Appl. Genetics. – 1997. – Vol. 95. – P. 865–873.
33. Xu, F. Comparative analysis of phylogenetic relationships of grain amaranths and their wild relatives (*Amaranthus*; *Amaranthaceae*) using internal transcribed spacer, amplified fragment length polymorphism, and double-primer fluorescent intersimple sequence repeat markers / F. Xu, M. Sun // Mol. Phylogenet. Evol. – 2001. – Vol. 21. – P. 372–387.
34. Wassom, J. J. Amplified fragment length polymorphism-based genetic relationships among weedy *Amaranthus* species / J. J. Wassom, P. J. Tranel // J. Hered. – 2005. – Vol. 96. – P. 410–416.
35. Development and characterization of microsatellite markers for the grain amaranths / M. A. Mallory [et al.] // Crop Science. – 2008. – Vol. 48. – P. 1098–1106.
36. Characterization of microsatellite loci developed for *Amaranthus hypochondriacus* and their cross-amplification in wild species / J. R. Lee [et al.] // Conserv. Genet. – 2008. – Vol. 9. – P. 243–246.
37. Ray, T. Phylogenetic relationships between members of *Amaranthaceae* and *Chenopodiaceae* of Lower Gangetic plains using RAPD and ISSR markers / T. Ray, S. C. Roy // Bangladesh Bot. J. – 2007. – Vol. 36, № 1. – P. 21–28.
38. Власова, А. Б. Генетическая дифференциация сортов *Amaranthus* spp. на основе RAPD- и ISSR-маркерів / А. Б. Власова, А. Н. Юхимук, Е. В. Спиридович // Современные тенденции в селекции и семеноводстве овощных культур. Традиции и перспективы: материалы докл., сообщ. II Междунар. науч.-практ. конф. (Москва, 2–4 августа 2010 г). М., 2010. – С. 162–172.
39. Алексеева, Е. И. Физико-химическая характеристика сортов амаранта и их генетическая дифференциация / Е. И. Алексеева, А. Б. Власова, А. Н. Юхимук // Труды Белорус. гос. ун-та. Серия: Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. – 2010. – Т. 2. – С. 127–133.
40. Morgante, M. Microsatellites are preferentially associated with nonrepetitive DNA in plant genomes / M. Morgante, M. Hanafey, W. Powell // Nat Genet. – 2002. – Vol. 30. – P. 194–200.
41. Elkington, T. T. *Potentilla fruticosa* L. / T. T. Elkington, S. R. J. Woodell // J. Ecol. – 1963. – Vol. 51, № 3. – P. 769–781.
42. Eriksen, B. Molecular phylogeography and hybridization in members of the circumpolar *Potentilla* sect. *Niveae* (Rosaceae) / B. Eriksen, M. H. Töpel // Am. J. Bot. – 2006. – Vol. 93, № 3. – P. 460–469.
43. Davidson, C. G. Checklist of *Potentilla fruticosa*: the shrubby potentillas / C. G. Davidson, R. J. Enns, S. A. Gobin. – Morden, Manitoba, 1994. – 80 p.
44. Gregor, V. T. RAPD-Untersuchungen und Chromosomenzählungen in der *Potentilla-collina*-Gruppe (Rosaceae) / V. T. Gregor, J. R. Vechta, K. Weising // Ber. Bayer. Bot. Ges. Kassel. – 2003. – Vol. 72. – P. 159–167.
45. Hansen, K. T. Molecules and morphology in concert: tests of some hypotheses in arctic *Potentilla* (Rosaceae) / K. T. Hansen, R. Elven, C. Brochmann // Am. J. Bot. – 2000. – Vol. 87. – P. 1466–1479.
46. RAPD- и ISSR-генотипирование перспективных форм курильского чая (*Potentilla fruticosa* L.) коллекции Центрального ботанического сада НАН Беларусі / А. Б. Власова [и др.] // Сборник науч. тр. Никит. ботан. сада. – 2009. – Т. 131. – С. 59–63.

47. Weder, J. K. P. Identification of Food and Feed Legumes by RAPD-PCR / J. K. P. Weder // *Lebensm. Wiss u. Technol.* – 2002. – Vol. 35. – P. 504–511.
48. Marzouk, R. I. Assessment of relocation of *Trigonella cylindraceae* L. and *T. polyceratia* (L.) Trautv. Tj genus *Medicago*s inferred by RAPD and RFLP analyses / R. I. Marzouk, R. El-Bakatoushi // *Pak. J. Bot.* – 2011. – Vol. 43, № 5. – P. 2289–2294.
49. Dangi, R. S. Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* and *Trigonella caerulea* using ISSR and RAPD markers / R. S. Dangi // *BMC Plant Biology.* – 2004. – Vol. 4, № 3. – P. 4–13.
50. Assessment of genetic diversity in *Trigonella foenum-graecum* L. Tunisian cultivars using ISSR markers / N. Marzougui [et al.] // *J. Food, Agricult., Environment.* – 2009. – Vol. 7, № 1. – P. 101–105.
51. Molecular and biochemical characterization of different accessions of Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) / A. Harish [et al.] // *Libyan Agriculture Research Center Journal Internation.* – 2011. – Vol. 2, № 3. – P. 150–154.
52. *Lilacs: a gardener's encyclopedia* / ed. by J. L. Fiala, F. Vrugtman. – Timber Press, 2008. – 416 p.
53. Комплексное изучение видов и сортов рода *Syringa* L. в ГБС РАН и ЦБС НАН Беларуси / О. И. Молканова [и др.] // *Вестн. Удмурт. ун-та.* – 2011. – Вып. 2. – С. 66–73.
54. Спиридович, Е. В. Коллекция сирени Центрального ботанического сада НАН Беларуси и селекция некоторых сортов на основе белковых маркеров / Е. В. Спиридович, А. Б. Власова, П. С. Шабуня // *Генетика и селекция в XXI веке: материалы VIII съезда БОГИС, Минск, 23–25 июля 2002 г.* – Минск, 2002. – С. 151–152.
55. Сохранение и изучение генофонда сирени в ЦБС НАН Беларуси / В. Н. Решетников [и др.] // *Проблемы лесоведения и лесоводства: сб. науч. тр.* – Гомель, 2007. – Вып. 67. – С. 238–245.
56. Биотехнологические и биохимические подходы в создании, оценке и использовании коллекции сирени ЦБС НАН Беларуси / Е. В. Спиридович [и др.] // *Ботаника (исследования).* – Минск, 2011. – Вып. 40. – С. 543–560.



## ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие редакторов .....	5
Принятые сокращения .....	6
<i>ЧАСТЬ I. ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ</i>	
<b>Глава 1. Идентификация и паспортизация сортов сельскохозяйственных культур на основе ДНК-маркеров (Урбанович О. Ю., Кузмицкая П. В., Картель Н. А.)</b> .....	10
1.1. Преимущества молекулярных методов идентификации генотипов .....	11
1.2. Основные типы молекулярных маркеров, используемых для идентификации генотипов .....	12
1.3. Принцип метода ДНК-идентификации с помощью SSR-маркеров .....	14
1.4. Методика ДНК-фингерпринтинга с помощью SSR-маркеров .....	17
1.5. Применение методов ДНК-фингерпринтинга .....	23
Литература .....	25
<b>Глава 2. Молекулярные технологии в селекции пшеницы (<i>Triticum aestivum</i> L.)</b> .....	29
2.1. Генетическое разнообразие сортов пшеницы, выращиваемых в Беларуси (Фомина Е. А., Мальшев С. В., Урбанович О. Ю., Куликович С. Н., Картель Н. А.) .....	29
2.1.1. Анализ информативности микросателлитных маркеров .....	31
2.1.2. Анализ генетического разнообразия сортов, культивируемых на территории Республики Беларусь .....	33
Литература .....	38
2.2. Маркер-сопутствующая селекция пшеницы по признаку устойчивости к бурой ржавчине (Булойчик А. А., Долматович Т. В.) .....	40
2.2.1. Возможность сочетания молекулярных и фитопатологических методов исследования .....	41
2.2.2. Маркирование эффективных генов устойчивости .....	43
2.2.3. Анализ сортов мягкой яровой пшеницы, внесенных в Государственный реестр Республики Беларусь, на наличие генов устойчивости к возбудителю бурой ржавчины .....	47
Литература .....	54
<b>Глава 3. Молекулярные технологии в селекции ячменя (<i>Hordeum vulgare</i> L.) (Луханина Н. В., Давыденко О. Г.)</b> .....	56
Литература .....	69
<b>Глава 4. Определение типичности инбредных линий и идентификация простых гибридов кукурузы (<i>Zea mays</i> L.) на основе полиморфизма микросателлитной ДНК (Лемеш В. А., Сидоренко Е. В., Гузенко Е. В., Хотылева Л. В.)</b> .....	72
4.1. Биохимический анализ запасного белка кукурузы (зеина) .....	76

4.2. Молекулярно-генетический анализ чистоты и типичности изучаемых линий кукурузы с помощью SSR-ПЦР . . . . .	78
4.3. Идентификация простых гибридов кукурузы с помощью микросателлитных маркеров	85
Литература . . . . .	91
<b>Глава 5. Молекулярно-генетические исследования цитоплазматической мужской стерильности у ржи (<i>Secale cereale</i> L.) в связи с селекцией на гетерозис (Шимко В. Е., Гордей И. А., Аксенова Е. А., Ярмолинский Д. В.) . . . . .</b>	<b>93</b>
Литература . . . . .	97
<b>Глава 6. Молекулярно-цитогенетический анализ линий гексаплоидных тритикале (<math>\times</math> <i>Triticosecale</i> Wittm.) с интрогрессиями от дикорастущих видов эгилопсов (Орловская О. А., Адошина И. Г., Салина Е. А., Хотылева Л. В.) . . . . .</b>	<b>99</b>
6.1. Реорганизация геномного состава линий гексаплоидных тритикале при интрогрессии генетического материала от дикорастущих видов эгилопсов . . . . .	105
6.2. Влияние генотипа на формирование хозяйственно ценных признаков у линий гексаплоидных тритикале . . . . .	108
Литература . . . . .	112
<b>Глава 7. Молекулярные технологии в селекции сои (<i>Glycine max</i> L.) (Аксенова Е. А., Давыденко О. Г.) . . . . .</b>	<b>116</b>
7.1. Сиквенс и анализ генома сои . . . . .	117
7.2. Генетические карты и молекулярные маркеры . . . . .	119
7.3. Молекулярное маркирование генов, отвечающих за состав и качество зерна . . . . .	123
7.3.1. SSR-анализ гибридных популяций F <sub>2</sub> для маркер-сопутствующей селекции белорусских сортов сои . . . . .	127
7.4. Молекулярные маркеры и устойчивость сои к биотическим и абиотическим факторам окружающей среды . . . . .	128
7.5. Молекулярное маркирование генов фотопериодизма у сои . . . . .	130
7.5.1. Дифференциация коллекционных сортообразцов сои по молекулярным маркерам для определения источника аллеля E7 . . . . .	133
7.6. Базы данных . . . . .	135
7.7. ДНК-маркеры как средство оценки генетического разнообразия и идентификации сортообразцов . . . . .	137
Литература . . . . .	140
<b>Глава 8. Идентификация геном-специфических ДНК-маркеров для оценки генетического полиморфизма рапса (<i>Brassica napus</i> L.) в целях создания сортов пищевого назначения (Лемеш В. А., Пилюк Я. Э., Грушецкая З. Е., Мозгова Г. В., Бакановская А. В., Пикун О. А., Хотылева Л. В.) . . . . .</b>	<b>146</b>
8.1. Особенности организации генома <i>Brassica napus</i> L. . . . .	148
8.2. Идентификация генов <i>FAEI</i> , контролирующих синтез эруковой кислоты в масле семян рапса . . . . .	149
8.3. Маркер-сопутствующий отбор по генам, контролирующим уровень содержания олеиновой и линоленовой ненасыщенных жирных кислот в рапсовом масле . . . . .	154
8.4. Анализ сортов рапса по локусам, контролирующим уровень содержания клетчатки в семенах . . . . .	161
Литература . . . . .	164
<b>Глава 9. Молекулярные технологии в селекции льна (<i>Linum usitatissimum</i> L.) . . . . .</b>	<b>167</b>
9.1. Идентификация и паспортизация сортов льна на основе ДНК-маркеров (Лемеш В. А., Богданова М. В., Кильчевский А. В., Хотылева Л. В.) . . . . .	167
Литература . . . . .	175

9.2. Молекулярно-генетический анализ <i>fad3</i> генов льна масличного (Лемеш В. А., Богданова М. В.)	176
Литература	183
9.3. Молекулярно-генетическая идентификация генов семейства целлюлозосинтаз, контролирующих формирование лубяного волокна льна ( <i>Linum usitatissimum</i> L.) (Галиновский Д. В., Анисимова Н. В., Райский А. П., Леонтьев В. Н., Туток В. В., Кильчевский А. В., Хотылева Л. В.)	184
9.3.1. Ферменты биосинтеза целлюлозы	186
9.3.2. Особенности структуры генов целлюлозосинтаз растений	188
9.3.3. Биосинтез целлюлозы в клетках льна	191
9.3.4. Идентификация генов целлюлозосинтаз, функционирующих в стеблях, листьях и апикальной части растений льна-долгунца	193
9.3.5. Сравнительный анализ генов целлюлозосинтаз льна культурного ( <i>Linum usitatissimum</i> L.) с их ортологами <i>Arabidopsis thaliana</i>	197
9.3.6. Разработка метода RFLP-анализа для идентификации генов целлюлозосинтаз льна культурного ( <i>Linum usitatissimum</i> L.)	200
Литература	204
9.4. Молекулярно-генетический анализ полиморфизма подвидов льна культурного для идентификации генотипов с редкими ДНК-локусами (Лемеш В. А., Богданова М. В., Кубрак С. В., Никитинская Т. В., Туток В. В., Хотылева Л. В.)	206
9.4.1. Оценка генетического разнообразия сортов льна с помощью RAPD и ISSR анализа	206
9.4.2. Сравнительная оценка генетического разнообразия современных сортов и белорусских ландрас льна с помощью RAPD-анализа	212
9.4.3. Оценка генетического разнообразия сортов льна с помощью SSR-анализа	216
9.4.3.1. Оценка полиморфизма SSR-локусов сортов льна различной селекционной направленности и географического происхождения	217
9.4.3.2. Оценка полиморфизма SSR-локусов сортов льна масличного	220
9.4.3.3. Оценка полиморфизма SSR-локусов сортов льна-долгунца, включенных в Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород Республики Беларусь, и стародавних белорусских сортов	221
9.4.3.4. Выявление сортов льна с редкими и уникальными аллелями SSR-локусов	223
9.4.3.5. Генетический полиморфизм сортов льна в зависимости от периода селекции	227
9.4.3.6. Оценка уровня гетерозиготности сортов льна с использованием микросателлитных маркеров	230
9.4.3.7. Изучение генетических взаимосвязей сортов льна на основе SSR-анализа	232
Литература	240
<b>Глава 10. Использование ДНК-маркеров в селекции картофеля (<i>Solanum tuberosum</i> L.)</b>	<b>243</b>
10.1. Селекция картофеля с помощью ДНК-маркеров (Ермишин А. П., Воронкова Е. В., Лукаш В. И.)	243
10.1.1. Типы ДНК-маркеров, используемые в селекции картофеля	245
10.1.2. ДНК-маркеры для детекции доминантных генов устойчивости к болезням и вредителям картофеля	246
10.1.2.1. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к фитофторозу картофеля	246
10.1.2.2. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к золотистой цистообразующей нематодe	247
10.1.2.3. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к Y-вирусу картофеля (PVY)	249
10.1.2.4. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к X-вирусу картофеля (PVX)	249
10.1.2.5. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к вирусу скручивания листьев картофеля (БСЛК, PLRV, L-вирусу)	250
10.1.2.6. ДНК-маркеры для детекции генов устойчивости к раку картофеля	251

10.2. Особенности картофеля как объекта MAS. Направления использования MAS в селекции картофеля (Ермишин А. П., Воронкова Е. В., Лукиш В. И.) . . . . .	251
10.2.1. Применение ДНК-маркеров для оценки исходного селекционного материала. . . . .	252
10.2.1.1. Оценка исходного материала для селекции картофеля с целью выделения носителей ДНК-маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям. . . . .	254
10.2.1.2. Оценка аллельного состояния селекционно ценных генов в исходном материале . . . . .	260
10.2.2. Использование MAS в селекции картофеля с применением отбора на диплоидном уровне . . . . .	264
10.2.2.1. Оценка дигаплоидов картофеля из коллекции Института генетики и цитологии НАН Беларуси на наличие ПЦР-маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям . . . . .	265
10.2.2.2. Получение и оценка первичных дигаплоидов сортов картофеля, отобранных по комплексу ДНК-маркеров генов устойчивости к болезням и вредителям . . . . .	268
Литература . . . . .	272
10.3. Молекулярные маркеры в селекции на низкое содержание моносахаридов в клубнях картофеля (Кондратюк А. В., Козлов В. А., Кильчевский А. В.) . . . . .	276
10.4. Молекулярные маркеры в экспертизе на отличимость, однородность и стабильность (Кондратюк А. В., Козлов В. А., Кильчевский А. В.) . . . . .	284
Литература . . . . .	288
<b>Глава 11. Молекулярные технологии в селекции томата (<i>Solanum lycopersicum</i> L.)</b> (Кильчевский А. В., Бабак О. Г., Некрашевич Н. А., Аджиева В. Ф., Малышев С. В., Грушецкая З. Ф., Мишин Л. А., Добродькин М. М., Зайцева И. Е., Пугачева И. Г.) . . . . .	290
11.1. Использование SSR-маркеров для ДНК-идентификации паспортизации сортов и гибридов томата. . . . .	291
11.2. Генетическая детерминация процессов созревания у томата. . . . .	294
11.2.1. Разработка маркеров и типирование коллекции по генам лежкости . . . . .	296
11.3. Генетическая детерминация процессов накопления каротиноидов у томата . . . . .	301
11.3.1. Разработка маркеров и типирование коллекции по генам измененного содержания каротиноидов . . . . .	303
11.4. Создание форм, сочетающих гены повышенного содержания каротиноидов и длительного периода сохранности плодов, на основе методов ДНК-типирования . . . . .	310
11.5. Отбор форм томата методами ДНК-типирования с двумя генами качества в популяциях F <sub>2</sub> . . . . .	315
11.6. Создание гибридов F <sub>1</sub> с тремя генами качества плодов и перспективы их использования . . . . .	319
11.7. Генетическая детерминация устойчивости к болезням. . . . .	322
11.7.1. Использование методов ДНК-типирования в селекции на устойчивость к болезням у томата . . . . .	324
11.7.2. Разработка технологии маркер-сопутствующего отбора томата по признаку устойчивости к кладоспориозу и ДНК-типирование коллекции . . . . .	324
11.7.3. Разработка технологии маркер-сопутствующего отбора томата по признаку устойчивости к фузариозу и ДНК-типирование коллекции . . . . .	326
11.7.4. Разработка технологии маркер-сопутствующего отбора томата по признаку устойчивости к мелойдогинозу и ДНК-типирование коллекции . . . . .	327
11.7.5. Изучение возможности одновременного выявления аллелей устойчивости к кладоспориозу и нематоду у томата с использованием маркера 2-5CF/2-5CR. . . . .	329
11.7.6. Разработка методических основ идентификации гена устойчивости к фитофторе Ph-3 и ДНК-типирование образцов изучаемой коллекции . . . . .	330
11.8. Создание и изучение гибридов F <sub>1</sub> с комплексной устойчивостью к болезням . . . . .	331
11.9. ДНК-скрининг поколения гибридов F <sub>2</sub> для отбора гомозиготных форм с генами устойчивости к болезням . . . . .	333
11.10. Сочетание методов MAS и гаметной селекции для создания сортов и гибридов томата с одновременной устойчивостью к пониженным температурам и болезням . . . . .	334
Литература . . . . .	338

<b>Глава 12. ДНК-маркирование исходного материала овощных культур для селекции гетерозисных гибридов (Шантуренко М. Н., Тарутина Л. А., Мишин Л. А., Якимович А. В., Забара Ю. М., Кильчевский А. В., Хотылева Л. В.)</b> . . . . .	345
12.1. Перец сладкий ( <i>Capsicum annuum</i> L.) . . . . .	349
12.2. Капуста белокочанная ( <i>Brassica oleracea</i> L. var. <i>capitata</i> L. f. <i>alba</i> DC.) . . . . .	358
Литература . . . . .	362
<b>Глава 13. Геномные биотехнологии в селекции сахарной свеклы (<i>Beta vulgaris</i> L.) (Свирицкая А. М., Мальшева О. М., Милько Л. В., Кильчевский А. В.)</b> . . . . .	367
13.1. RFLP-маркеры . . . . .	368
13.2. RAPD-маркеры . . . . .	369
13.2.1. RAPD-фингерпринтинг близкородственных генотипов свеклы. . . . .	371
13.2.2. RAPD-фингерпринтинг для идентификации линий и гибридов свеклы . . . . .	376
13.3. AFLP-маркеры . . . . .	381
13.3.1. AFLP-фингерпринтинг линий сахарной свеклы гиногенетического происхождения и в группах «донорное материнское растение – гиногенетическое потомство». . . . .	384
13.3.2. AFLP-фингерпринтинг у культивируемых <i>in vitro</i> побегов гиногенетических линий сахарной свеклы разного возраста . . . . .	385
13.4. SSR-маркеры . . . . .	386
Литература . . . . .	390
<b>Глава 14. Молекулярные маркеры в селекции яблони (<i>Malus × domestica</i> Borkh.)</b> . . . . .	393
14.1. Генетическое разнообразие сортов яблони и методы их ДНК-идентификации (Урбанович О. Ю., Кузмицкая П. В., Козловская З. А., <u>Картель Н. А.</u> ) . . . . .	393
14.1.1. Особенности генома яблони . . . . .	394
14.1.2. SSR-маркеры для идентификации генотипов яблони . . . . .	394
14.1.3. Анализ генетического разнообразия сортов яблони . . . . .	395
14.1.4. Генетическое сходство генотипов яблони. . . . .	401
14.1.5. ДНК-паспортизация сортов яблони . . . . .	403
Литература . . . . .	406
14.2. Молекулярные маркеры в селекции яблони на устойчивость к болезням (Урбанович О. Ю., Козловская З. А., Кузмицкая П. В., Васеха В. В., <u>Картель Н. А.</u> ) . . . . .	407
14.2.1. Молекулярные маркеры в селекции яблони на устойчивость к парше . . . . .	409
14.2.1.1. Отбор и анализ устойчивости к парше гибридных семян яблони с геном <i>Rvi6(Vf)</i> . . . . .	410
14.2.1.2. Отбор и анализ устойчивости к парше гибридных семян яблони с геном <i>Rvi17(Val)</i> . . . . .	414
14.2.2. Создание семян яблони с комплексной устойчивостью к парше. . . . .	417
14.2.3. Молекулярные маркеры в селекции яблони на устойчивость к мучнистой росе . . . . .	419
Литература . . . . .	427
<b>Глава 15. Генетическое разнообразие сортов груши и методы их ДНК-идентификации (род <i>Pyrus</i>) (Урбанович О. Ю., Кузмицкая П. В., Козловская З. А., Якимович О. А., <u>Картель Н. А.</u>)</b> . . . . .	430
15.1. Особенности генома груши . . . . .	430
15.1.1. SSR-маркеры для идентификации генома груши. . . . .	430
15.2. Генетическое разнообразие сортов груши, выращиваемых в Беларуси . . . . .	431
15.3. Генетическое сходство сортов груши . . . . .	436
15.4. ДНК-идентификация и паспортизация сортов груши . . . . .	438
Литература . . . . .	439
<b>Глава 16. Молекулярная характеристика патогенных вирусов плодовых и ягодных культур (Волосевич Н. Н., Колбанова Е. В., Соловей О. В., Кухарчик Н. В.)</b> . . . . .	441
16.1. Вирус кустистой карликовости малины . . . . .	443
16.2. Вирус реверсии смородины черной . . . . .	450

16.3. Вирус мозаики яблони . . . . .	453
16.4. Вирус косточковых культур – вирус Шарки сливы . . . . .	457
16.4.1. Молекулярное типирование штаммовой принадлежности белорусских изолятов вируса Шарки . . . . .	458
16.4.2. Определение нуклеотидных последовательностей ПЦР-фрагментов . . . . .	459
Литература . . . . .	463
<b>Глава 17. Молекулярно-генетические аспекты изучения лесных древесных видов растений (Падутов В. Е., Баранов О. Ю., Каган Д. И., Ковалевич О. А., Пантелеев С. В., Ивановская С. И.) . . . . .</b>	
17.1. Популяционная генетика и таксономия . . . . .	468
17.1.1. Популяционное разнообразие . . . . .	468
17.1.2. Экотипическое разнообразие . . . . .	471
17.1.3. Геногеография . . . . .	474
17.1.4. Таксономия . . . . .	478
17.2. Селекция и семеноводство . . . . .	483
17.2.1. Анализ генов, детерминирующих хозяйственно ценные признаки . . . . .	483
17.2.2. Маркер-сопутствующая селекция . . . . .	485
17.2.3. Мутагенез и полиплоидия . . . . .	486
17.2.4. Семеноводство . . . . .	488
17.3. Молекулярная фитопатология . . . . .	492
17.4. Генетическая экспертиза . . . . .	500
Литература . . . . .	503
<b>Глава 18. Молекулярные маркеры в таксономии, метаболом-направленной селекции и сохранении генетических ресурсов Центрального ботанического сада НАН Беларуси (Стиридович Е. В., Власова А. Б., Юхимук А. Н., Гончарова Л. В., Агабалаева Е. Д., Решетников В. Н.) . . . . .</b>	
18.1. Род <i>Vaccinium</i> L. . . . .	510
18.2. Род <i>Amaranthus</i> L. . . . .	515
18.3. Род <i>Potentilla</i> L. . . . .	520
18.4. Род <i>Trigonella</i> L. . . . .	522
18.5. Род <i>Syringa</i> L. . . . .	527
Литература . . . . .	533

## ЧАСТЬ 2. ТРАНСГЕНЕЗ В СЕЛЕКЦИИ РАСТЕНИЙ

<b>Глава 1. Методы создания трансгенных растений (Картель Н. А.) . . . . .</b>	
1.1. Агробактериальная трансформация . . . . .	540
1.2. Прямая трансформация и микробомбардировка . . . . .	542
1.3. Промоторы . . . . .	543
1.4. Экспрессия трансгенов . . . . .	545
1.5. Хозяйственно ценные трансгенные растения . . . . .	547
1.6. Практическое использование трансгенных растений . . . . .	555
1.7. Вопросы безопасности и перспективы . . . . .	558
Литература . . . . .	559
<b>Глава 2. Создание трансгенных растений табака (род <i>Nicotiana</i>) и арабидопсиса (<i>A. thaliana</i>) с генами биосинтеза рамнолипидов (Картель Н. А., Бричкова Г. Г., Манешина Т. В.) . . . . .</b>	
2.1. Создание векторных конструкций . . . . .	564
2.2. Создание трансгенных растений . . . . .	566
2.3. Молекулярно-генетический анализ трансформантов . . . . .	570
2.4. Биохимический анализ трансформантов . . . . .	572

2.5. Толерантность трансгенных растений к тяжелым металлам . . . . .	575
2.6. Толерантность к нефти и нефтепродуктам . . . . .	580
Литература . . . . .	586
<b>Глава 3. Трансгенез в селекции картофеля (<i>Solanum tuberosum</i> L.) . . . . .</b>	<b>588</b>
3.1. Трансгенные растения картофеля с геном эндохитиназы ([ <i>Кармель Н. А.</i> ], <i>Шахба- зов А. В., Панюш А. С.</i> ) . . . . .	588
3.1.1. Создание и молекулярно-генетический анализ трансформантов . . . . .	589
3.1.2. Биохимический анализ трансгенных растений . . . . .	593
3.1.3. Анализ противопатогенного эффекта трансгена хитиназы . . . . .	596
Литература . . . . .	
3.2. Трансгенные растения картофеля с геном <i>сru3aM</i> <i>Bacillus thuringiensis</i> ([ <i>Кармель Н. А.</i> ], <i>Исаенко Е. В., Межнина О. А.</i> ) . . . . .	605
3.2.1. Создание систем экспрессии гена <i>сru3aM</i> в растениях . . . . .	606
3.2.2. Получение и молекулярно-генетический анализ трансгенных растений картофеля	609
3.2.3. Анализ инсектицидных свойств гена <i>сru3aM</i> . . . . .	612
Литература . . . . .	615
<b>Глава 4. Генетическая трансформация льна-долгунца (<i>Linum usitatissimum</i> L.)</b> <b>(<i>Лемеш В. А., Гузенко Е. В.</i>) . . . . .</b>	<b>616</b>
4.1. Агробактериальная трансформация льна-долгунца генетической конструкцией с хи- мерным геном <i>gfp-tuab</i> . . . . .	619
4.2. Агробактериальная трансформация льна-долгунца генетической конструкцией с ге- ном <i>aroA</i> , придающим устойчивость к гербициду глифосату . . . . .	623
4.3. Биобаллистическая трансформация льна-долгунца конструкцией с химерным геном <i>gfp-tuab</i> . . . . .	625
4.4. Анализ линий, сформированных на основе растений – «ложных трансформантов» . .	629
Литература . . . . .	643