Клітинна та молекулярна біологія
Cell Biology and Molecular Biology

https://doi.org/10.15407/ukrbotj79.01.027

RESEARCH ARTICLE

Розробка мікросателітних маркерів для *Schizophyllum commune* (*Agaricales, Basidiomycota*) на підставі аналізу його геному

Сергій М. БОЙКО

Інститут еволюційної екології НАН України, вул. акад. Лебедєва 37, Київ 03143, Україна

Abstract. Simple sequence repeat of DNA (SSRs) are the most popular source of genetic markers used in population genetics, phylogenetics, and genetic mapping. A large number of nucleotide repeats enriched in G and C were identified. 336 mononucleotide motifs with more than ten repeats were recorded. 2020 nucleotide repeats were identified, of which 97.4% are di- (68.2%) and trinucleotides (29.2%). The total number of unique SSR loci, to which primers pairs were developed, was 1920. PCR primer sequences for unique SSR loci of the *S. commune* genome are presented. Of the twenty-two SSR markers synthesized for the *S. commune* genome, amplicons formed 64% on freshly isolated DNA samples.

Keywords: genome, motif, primers, *Schizophyllum commune*, SSR markers

Article history. Submitted 22 June 2021. Revised 16 February 2022. Published 10 March 2022

Citation. Boiko S.M. 2022. Design of microsatellite markers for *Schizophyllum commune* (*Agaricales, Basidiomycota*) based on analysis of its genome. *Ukrainian Botanical Journal*, 79(1): 27–34

Affiliation. Institute for Evolutionary Ecology National Academy of Sciences of Ukraine, 37 Lebedeva Str., Kyiv 03143, Ukraine

*Corresponding author (e-mail: *bsmbio@gmail.com*)

Вступ

На генетичне різноманіття популяцій видів впливають відбір, мутації, міграція, чисельність особин у популяції та генетичний дрейф. Розуміння кожного з цих факторів є необхідним для з'ясування стратегій розповсюдження та збереження видів. Морфологічні маркери, які донедавна були основним інструментарієм, дозволяють виявляти генетичні варіації, але вони часто маскуються факторами оточуючого середовища і до того мінімізуються недостатністю помітних ознак (Andjelkovic et al., 2018). Досягнення молекулярної біології дозволили змінити підхід та проводити оцінку біорізноманіття з використанням ізоферментів та ДНК-маркерів (Garbelotto et al., 1993; Huang et al., 1998; Boiko, 2015, 2018; Liu et al., 2020). Для дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму об'єктів з різних еколого-географічних зон використовують різні методи, засновані на проведені ПЛР, а саме: RAPD (випадково ампліфікована поліморфна ДНК), AFLP (поліморфізм довжини ампліфікованих фрагментів), ISSR (поліморфізм фрагментів між мікросателітних послідовностей), SSR (поліморфізм простих повторюваних послідовностей ДНК) й інші. Прості повторюванні послідовності (SSR), або мікросателіти, – це тандемно повторювані послідовності ДНК, які зазвичай мають довжину 1–6 базових пар (b.p.) на одиницю (Tautz, Renz, 1984). Вони поширені у геномах еукаріот та прокаріот, у малих геномах вірусів (Mrazek et al., 2007; Zhao et al., 2011). Протягом останніх років SSR є найпопулярнішим джерелом генетичних маркерів та широко використовуються у типізації штамів, популяційній генетиці, філогенетиці та генетичному картуванні (Kirungu et al., 2018; Wang et al., 2017; Liu et al., 2020). Крім того, останні дослідження показують,

© 2022 S.M. Boiko. Published by the M.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

що мікросателіти виконують функціональну роль, впливаючи на регуляцію роботи генів, транскрипцію, функцію синтеза білка та організацію геному в цілому (Gerber et al., 1994; Hefferon et al., 2004; Kashi, King, 2006; Singh et al., 2018; Yin et al., 2019). Відомо, що варіації мікросателітів в основному спричинені неправильним з'єднанням послідовностей ДНК та подальшим збереженням помилок під час реплікації, репарації та рекомбінації (Schllotteroer et al., 1991). Швидкість мутацій мікросателітів, як правило, збільшується зі збільшенням одиниць повторів. Завдяки високій мінливості мікросателіти відіграють активну роль в еволюції геному, створюючи та підтримуючи генетичні варіації. Довжина SSR у промоторних ділянках геному може впливати на транскрипційну активність (Kashi et al., 1997). Високий рівень поліморфізму, що властивий мікросателітам, та легкість їхнього виявлення призвели до широкого застосування їх у якості генетичних маркерів (Singh et al., 2018; Liu et al., 2020).

Базидієвий дереворуйнуючий гриб *Schizophyllum commune* Fr. часто використовують як модельний об'єкт під час популяційно-генетичних досліджень (Ohm et al., 2010; Li et al., 2018; Kim et al., 2020). Однак інформація щодо наявних SSR маркерів, розроблених на базі його геному, відсутня.

У роботі проведено аналіз геному гриба *Schizophyllum commune* для пошуку послідовностей мікросателітної ДНК та розробки відповідних ДНК маркерів.

Матеріали та методи

Геном гриба Schizophyllum commune. Послідовність повного геному *Schizophyllum commune* штаму H4-8 (Fungal Genetic Stock Center, GenBank Assembly GCA_000143185.1) була завантажена з *National Center for Biotechnology Information* (https://www.ncbi.nlm.nih.gov).

Культивування штамів. Тестові культури (вісім штамів, виділені нами з базидіокарпів, зібраних у Івано-Франківській області; зберігаються в колекції культур грибів Інституту еволюційної екології НАН України) гриба *S. commune* вирощували протягом 10 діб за температури 28 °C на рідкому глюкозо-пептоному середовищі такого складу (г × л$^{-1}$): глюкоза – 10,0; пептон – 3,0; K_2HPO_4 − 0,4; $MgSO_4 \times 7H_2O$ – 0,5; $ZnSO_4 \times 7H_2O$ – 0,001; $CaCl_2$ – 0,05. Живильне середовище доводили до pH 5.0 та розливали по 25 мл у колби Ерленмейєра ємністю 100 мл.

Виділення ДНК. Після культивування міцелій від'єднували від живильного середовища за допомогою вакуумної фільтрації. Виділення та очищення ДНК з міцелію проводили за допомогою набору реагентів NeoPrep DNA (Неоген, Україна). Отримана ДНК зі свіжого біологічного матеріалу є високомолекулярною (40–50 тис. н.п.).

Проведення ПЛР. ПЛР проводили в об'ємі 50 мкл, що містив 25 мкл ThermoScientific DreamTaq GreenPCR Master Mix (ThermoFisher, США), 10 нг геномної ДНК, 0,2 мкМ кожного праймеру. Ампліфікацію проводили у термоциклері SimpliAmp™ (ThermoFisher, США) за наступною програмою: первинна денатурація 3 хв за 95 °C, наступні 35 циклів денатурація 30 с за 95 °C, гібридизація праймерів 30 с за 57–60 °C, елонгація ланцюга ДНК 1 хв за 72 °C (температуру відпалу розраховували відповідно до рекомендації ThermoScientific DreamTaq GreenPCR Master Mix). Фінальна елонгація 5 хв за 72 °C. Розділення продуктів ампліфікації проводили в електрофоретичній камері з використанням 2% агарозного гелю (Fisher BioReagents) при 80 V протягом 90 хв у присутності 1% TBE буферу. Всі синтезовані пари праймерів перевірялись неодноразово на утворення продукту. Гель-документування здійснювали за допомогою системи AlphaImager 2200 (Alpha Innotech, США).

Обробка даних. Аналіз геному (кількісний та якісний склад мотивів) та дизайн праймерів проводили за допомогою програмного забезпечення MISA, Primer3 та GMATA (Wang, Wang, 2016; Beier et al., 2017; Koressaar et al., 2018). Розроблення праймерів до мікросателітних послідовностей здійснювали за таких параметрів: мононуклеотидні повтори мали мінімальну повторюваність десять, від двох до шести нуклеотидні мотиви мали мінімальну кількість повторів п'ять, довжина амплікона 120–400 символів, довжина праймера (18–25 символів); C + G склад (40–60%); Tm (57–63 °C).

Результати та обговорення

Першим етапом роботи був аналіз геному штаму H4-8 гриба *Schizophyllum commune* на наявність різних типів мотивів. Однонуклеотидні мотиви показали дуже високу концентрацію, близько 97,8% від усіх повторювань, а це за кількістю становить 87968 (з надмірною представленістю G/C порівняно

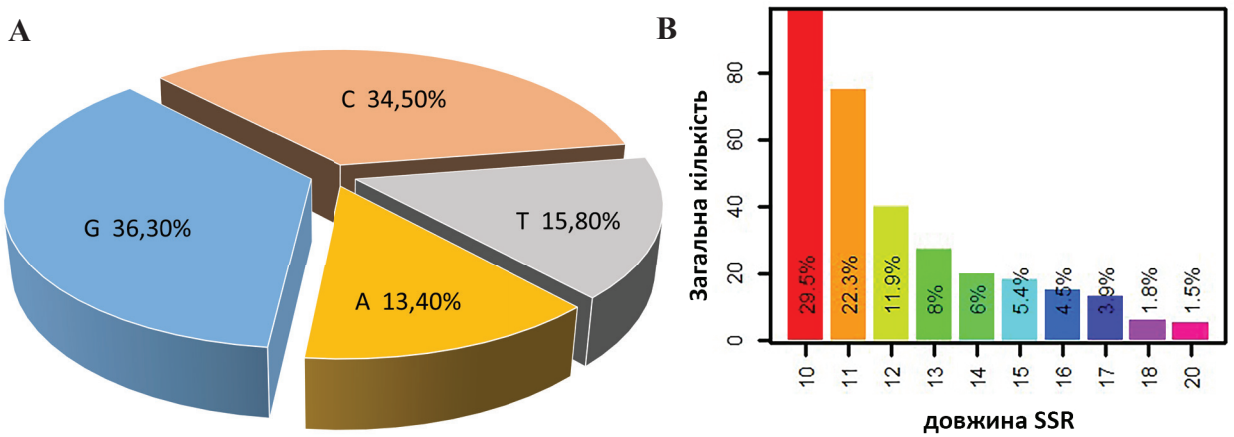

Рис. 1. Загальна характеристика однонуклеотидних мотивів (A), довжина SSR (н. п.) та кількість SSR (B) у геномі *Schizophyllum commune* H4-8

Fig. 1. General characteristics of mononucleotide motifs (A), SSR length (bp), and SSR number (B) in the genome of *Schizophyllum commune* H4-8

з послідовностями T/A). Такий високий відсоток пов'язаний з однаковими умовами для всіх мотивів (мінімальна повторюваність п'ять). Велика кількість встановлених SSR ускладнює процес пошуку дієвих маркерів. Збільшення повторів до десяти (як мінімум), призводить до значного зниження їхнього відсотка в загальному об'ємі. За таких параметрів у геномі гриба фіксується 336 мотивів, більшість з яких припадає на повтори G та C (рис. 1, A). При цьому концентрація мотивів обернено пропорційна їхній довжині (рис. 1, B). Отримана фактична інформація може бути корисна при порівняльному аналізі геномів грибів різних видів.

Отримана інформація дає можливість прогнозувати у геномі *S. commune* велику кількість багатонуклеотидних мотивів, збагачених на G та C.

Зазвичай для популяційно-генетичних досліджень використовують SSR маркери, що дають продукт як мінімум на динуклеотидний мотив з 5-разовою повторюваністю (Chakraborty et al., 1997; Lim et al., 2004; Lee et al., 2018). Саме такі мінімальні умови ми використовували для подальшого аналізу геному *Schizophyllum commune* та пошуку мікросателітних маркерів. Загалом було ідентифіковано 2020 різних мотивів, 97,4% яких складають ди- (68,2%) та тринуклеотиди (29,2%) (рис. 2).

Схожий аналіз мікросателітних послідовностей ДНК наведено в роботі Wang et al. (2014), яка присвячена їстівному грибу *Volvariella volvacea* (Bull.) Singer і містить порівняння з іншими грибами, серед яких присутній *S. commune.* Однак з огляду на те, що вхідні умови аналізу, які застосовувалися у цій роботі різняться (для двонуклеотидних мотивів мінімальна повторюваність шість) з нашими (для двонуклеотидних мотивів мінімальна повторюваність п'ять), на виході ми отримуємо дані, які некоректно порівнювати. Адже в роботі Wang et al. було зроблено аналіз для 1206 SSR послідовностей ДНК, тоді як у нашій роботі ця кількість зросла до 2356 (завдяки двонуклеотидним мотивам). Звісно, оскільки досліджувався той самий геном *S. commune* штаму H4-8, обидва аналізи показали високий вміст нуклеотидів G та C.

Серед молекулярних маркерів динуклеотидні SSR є найбільш показовими через їхні більш високі

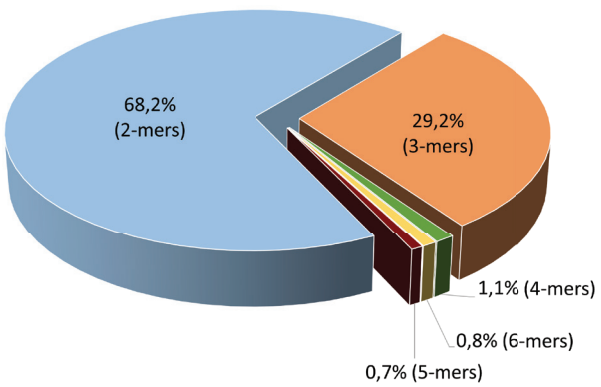

Рис. 2. Кількісний розподіл мотивів у геномі *Schizophyllum commune* H4-8

Fig. 2. Quantitative distribution of motifs in the genome of *Schizophyllum commune* H4-8

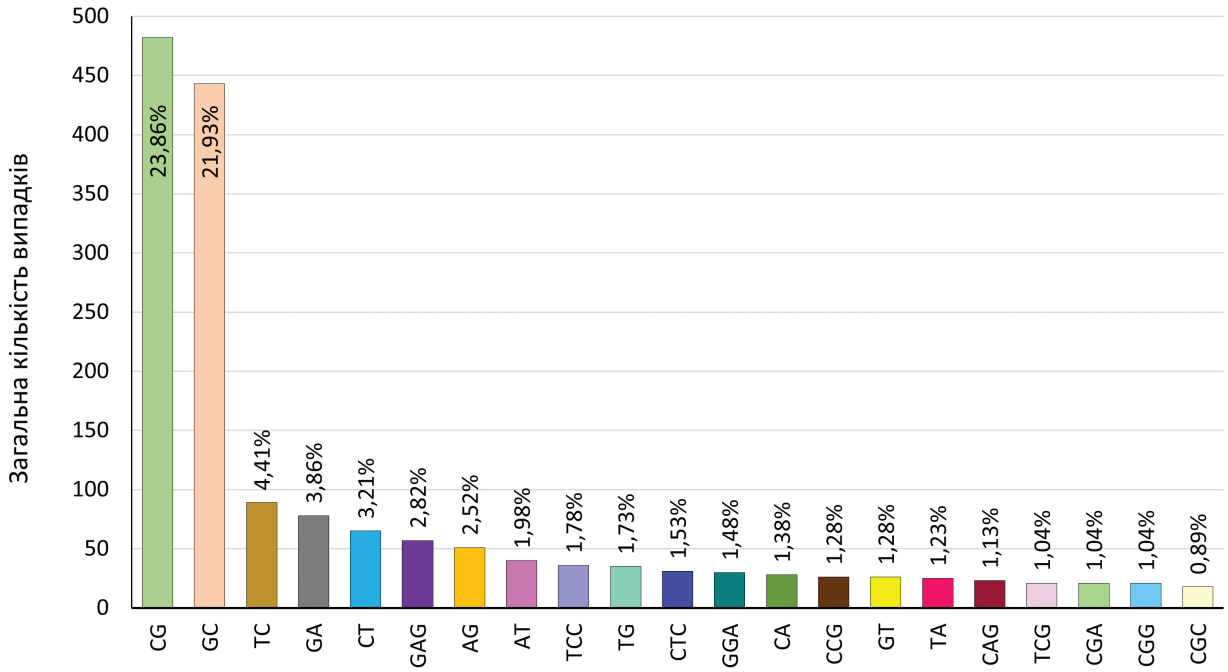

Рис. 3. Найбільш розповсюджені мотиви в геномі *Schizophyllum commune* H4-8

Fig. 3. The most common motifs in the genome of *Schizophyllum commune* H4-8

показники мутації (Chakraborty et al., 1997; Shakyawar et al., 2009). Найбільшу частоту в геномі *S. commune* мають динуклеотидні мотиви CG (23,86%) та GC (21,93%) (рис. 3). Це повністю підтверджує наше попереднє припущення про збагачення різних мотивів саме G та C. Надалі зі значно меншими концентраціями спостерігаються мотиви TC (4,41%), GA (3,86%), CT (3,21%). Серед тринуклеотидних мотивів найчастіше трапляється GAG (2,82%).

Серед групових варіантів спостерігається аналогічна картина, кількість CG/CG- та GC/GC-мотивів у геномі *S. commune* найбільша та становить 23,86% і 21,93% відповідно. На третьому місті за кількістю – група GA/TC (8,26%). І знову таки в усіх варіантах спостерігаємо присутність G та/або C.

Загальна кількість SSR локусів, до яких було розроблено парні праймерні послідовності склала 2004, а кількість унікальних маркерів становила 1920. Якщо розглянути довжину повторів то бачимо, що 58,16% складають 10-нуклеотидні, що дорівнює нашим мінімальним вимогам – п'ять повторів та динуклеотидний мотив (рис. 4). На другому місті за кількістю йдуть 15-нуклеотидні (19,55%), далі 12- (6,53%) та 18- (5,39%). При цьому спостерігали передбачувану залежність – чим більша довжина мікросателіту, тим менша його представленість у геномі гриба.

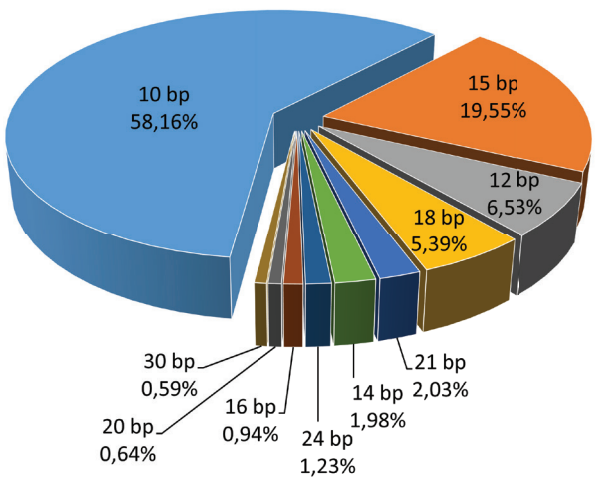

Рис. 4. Представленість різних SSR у геномі *Schizophyllum commune* H4-8

Fig. 4. Top SSR length distribution in the genome of *Schizophyllum commune* H4-8

Велика кількість загальних SSR, що несуть певне функціональне навантаження, сприяють еволюції геному в цілому. Серед тварин найпоширенішим мотивом є (GT)n (Stallings et al., 1991), а серед рослин (AT)n (Lagercrantz et al., 1993). Серед грибів більшість послідовностей багаті на A/T, особливо у повторах динуклеотидів, однак і повтори C/G також часто

Таблиця 1. **Послідовності ПЛР-праймерів для унікальних SSR локусів геному *Schizophyllum commune* та їхня продуктивність**

Table 1. **PCR primer sequences for unique SSR loci of the *Schizophyllum commune* genome and their productivity**

ID маркеру*	Ідентифікатор послідовності, розташування на хромосомі	Послідовність лівого праймеру	Послідовність правого праймеру	Розмір фрагментів	Мотив
MK105	GL377302.1 2504428:2505251 2504828:2504851	GCGTCGTTCTTCAGGTTCAT	GGATACCCTTTGGGCAGAAT	287	(TGG)8
MK139	GL377302.1 3300715:3301530 3301115:3301130	TTTCTTAGATCGCGGAGCAT	GCTTCGGTCTCAACACATCA	167	(AG)8
MK306	GL377303.1 574822:575637 575222:575237	GGAATCGTTGTGAGGCTGAT	GCCCAACAACTTTACGATCC	368	(GA)8
MK411	GL377303.1 3009359:3010182 3009759:3009782	TTGATGTGCGTATCGATGGT	ATGATGGAAGTGCGACCTCT	166	(TCC)8
MK526	GL377304.1 789791:790650 790191:790250	AGCTCCCGCATAGCATAAGA	GCATCATAAATGGCGTGATG	339	(TCCAG)12
MK595	GL377304.1 2568294:2569123 2568694:2568723	ACAGCGACAACAACAACAGC	GTCGACCACCATCTCGTCTT	253	(ACA)10
MK642	GL377305.1 1:585 48:185	CCCTAACCCTAACCCTAACCA	CGCACCTAGTTGAGGACACA	302	(CCTAAC)23
MK710	GL377305.1 1262241:1263082 1262641:1262682	ACACGGATGCAGAAGAGGAC	CGCGTCAAATAGGATGGTCT	198	(GAG)14
MK758	GL377305.1 2158349:2159175 2158749:2158775	CGACGGTTGTTTTGTTTCCT	GCCGAGCAAGCTACTGCTAC	254	(GCA)9
MK1011	GL377307.1 1372831:1373668 1373231:1373268	GTCCTTGTCCTCGTGTCCTC	TAATCTCCCTCCCCTCCTTC	267	(TG)19
MK1054	GL377307.1 2059378:2060192 2059778:2059792	AGGACGGAGGAGGAAAGAAG	CAAGTGTCTTCGCAGGTTCA	176	(GGA)17
MK1141	GL377308.1 1557472:1558304 1557872:1557904	AGGCTAAGGCCAAGAAGGAG	AGTATGGTTTCTGGCGGATG	215	(GGA)11
MK1185	GL377308.1 2409917:2410501 2410317:2410466	ATTCACTGTCGCCCGAGTAG	CGCTGCATAGCTGAGGTTTT	317	(GGGTTA)25
MK1186	GL377309.1 1:611 26:211	TTCGAGGGTGATGTCTAAGC	TGATGTGGAGCTGCATTTTG	231	(CTAACC)31
MK1336	GL377310.1 1104110:1104933 1104510:1104533	GTCACTTTCCCCATCACCAT	AATGACGACGACAACGACAA	195	(CTC)8
MK1396	GL377311.1 235777:236600 236177:236200	AGTGGGCAGAGGATATGTGG	CCTTTGATCGACGTGACTGA	154	(TGG)8
MK1424	GL377311.1 546244:547082 546644:546682	AGAAGTCGCAGGAGAGTCCA	ATGAGGAAGACGCAGACGAT	191	(TCC)13
MK1557	GL377312.1 532249:533063 532649:532663	TAAGCACTTGCACGAACGAC	AACTCGCCTGAAAAGCTTGA	242	(TGG)16
MK1597	GL377312.1 1338904:1339733 1339304:1339333	AGGTCCTGATGAACCGTCAA	ACCAACCTGGACGTCGATAC	137	(CTA)10
MK1716	GL377314.1 613945:614768 614345:614368	CCTCGACCTGATCCGTCTTA	AAGGCTAAGGGTAAGGGGAAG	127	(TCC)8
MK1816	GL377317.1 422134:422957 422534:422557	CTGCTTCTGCAACATCTGCT	ACGACGTAGGCAGCATCATA	225	(CTG)8
MK1851	GL377318.1 416839:417671 417239:417271	AGCAGGGACACTGGCATAAC	TGACCAGGTACGAGGGTAGG	243	(CCA)11

* Прямий шрифт – під час ПЛР амплікони не утворюються; курсив – амплікони синтезуються у незначної кількості зразків; жирний курсив – амплікони утворюються у переважної кількості зразків.

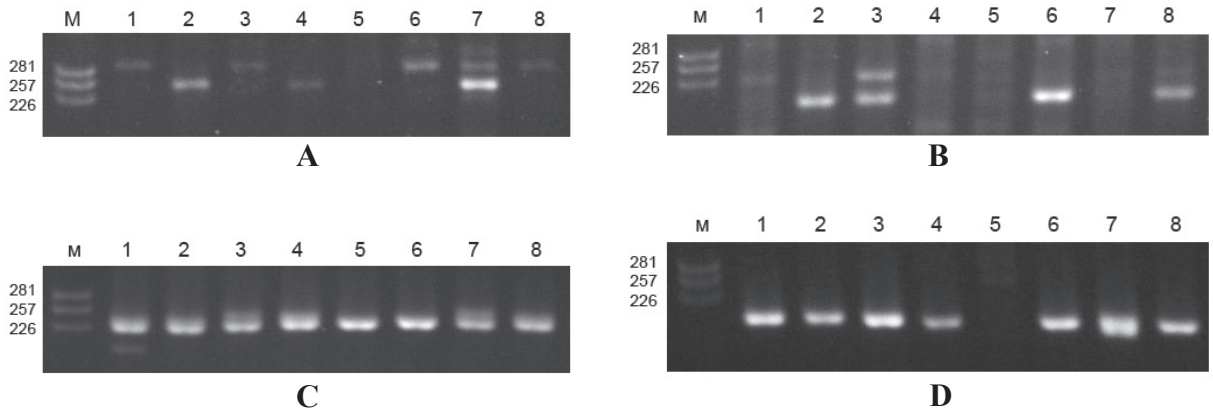

Рис. 5. Утворення ампліконів до розроблених SSR маркерів у *Schizophyllum commune* (A: MK105; B: MK411; C: MK595; D: MK710). M – маркер (н. п.), 1–8 – тестові культури

Fig. 5. Amplicon formation to the developed SSR markers in *Schizophyllum commune* (A: MK105; B: MK411; C: MK595; D: MK710). M – marker (bp), 1–8 – test cultures

спостерігаються (Karaoglu et al., 2005). Результати нашого дослідження підтверджують останній факт та доповнюють наявну інформацію. Часткова схожість геному *S. commune* за частотою повторів CG спостерігається з *Phanerochaete chrysosporium* Burds. (25,6%), та з *Ashbya gossypii* (S.F.Ashby & W.Nowell) Guillierm. (17,1%) (Lim et al., 2004).

Для розробки SSR маркерів ми відібрали найбільш складні 22 мотиви, що мали не менше восьми повторів та були розподілені по всьому геному *S. commune* (табл. 1).

Для кожного мотиву було синтезовано унікальну пару праймерів. Здатність утворювати відповідні амплікони перевірялась на щойно виділеній ДНК тестових культур *S. commune*. За результатом ПЛР не всі маркери давали результат, досить часто спостерігалась відсутність ампліфікації (рис. 5).

У середньому 64% з наведених SSR маркерів мали відповідні амплікони під час ПЛР. Більше за всіх утворювали амплікони ди- та тримотиви (67 та 73% відповідно). Збільшення вибірки тестових штамів надасть можливість рекомендувати ще деякі з них. Для популяційних досліджень пріоритетними є маркери, що утворюють поліморфні амплікони у переважної більшості зразків, тому, виходячи з отриманої інформації, більш дієві (загальні) SSR маркери для *S. commune* необхідно шукати серед ди- та тримотивів.

Висновки

Загалом, аналіз геному *Schizophyllum commune* дозволив встановити велику кількість нуклеотидних повторів, збагачених на G та C. Ідентифіковано 2020 нуклеотидних повторів, з яких 97,4% складають ди- (68,2%) та тринуклеотиди (29,2%). Із синтезованих 22 складних SSR-маркерів до геному *S. commune* амплікони утворювали 64% маркерів на щойно виділених зразках ДНК. Збільшення об'єму вибірки у подальшому надасть можливість дослідити більшу кількість SSR-маркерів.

Список посилань

Andjelkovic V., Nikolic A., Kovacevic D., Mladenovic-Drinic S., Kravic N., Babic V., Bosev D. 2018. Conserving maize in gene banks: Changes in genetic diversity revealed by morphological and SSR markers. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 78(1): 30–38. http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392018000100030

Beier S., Thiel T., Münch T., Scholz U., Mascher M. 2017. MISA-web: a web server for microsatellite prediction. *Bioinformatics*, 33: 2583–2585. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx198

Boiko S.M. 2015. *Ukrainian Botanical Journal*, 72(3): 252−256. [Бойко С.М. 2015. Генетична різноманітність популяцій *Schizophyllum commune* (Basidiomycetes) на півночі Донецької області. *Український ботанічний*

журнал, 72(3): 252–256]. https://doi.org/10.15407/ukrbotj72.03.252

Boiko S.M. 2018. Pool of endoglucanase genes in *Schizophyllum commune* Fr.: Fr. (Basidiomycetes) on the territory of Ukraine. *Acta Biologica Szegediensis*, 62(1): 53–59. https://doi.org/10.14232/abs.2018.1.53-59

Chakraborty R., Kimmel M., Stivers D.N., Davison L.J., Deka R. 1997. Relative mutation rates at di-, tri-, and tetranucleotide microsatellite loci. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(3): 1041–1046. https://doi.org/10.1073/pnas.94.3.1041

Garbelotto M., Bruns T.D., Cobb E.W., Otrosina W.I. 1993. Differentiation of intersterility groups and geographic provenances among isolates of *Heterobasidion annosum* detected by random amplified polymorphic DNA assays. *Canadian Journal of Botany*, 71: 565−569. https://doi.org/10.1139/b93-063

Gerber H.P., Seipel K., Georgiev O., Hofferer M., Hug M., Rusconi S., Schaffner W. 1994. Transcriptional activation modulated by homopolymeric glutamine and proline stretches. *Science*, 263: 808–811. https://doi.org/10.1126/science.8303297

Hefferon T.W., Groman J.D., Yurk C.E., Cutting G.R. 2004. A variable dinucleotide repeat in the CFTR gene contributes to phenotype diversity by forming RNA secondary structures that alter splicing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101: 3504–3509. https://doi.org/10.1073/pnas.0400182101

Huang H., Dane F., Kubisiak, T. 1998. Allozyme and RAPD analysis of the genetic diversity and geographic variation in wild populations of the American chestnut (*Fagaceae*). *American Journal of Botany*, 85(7): 1013–1021.

Karaoglu H., Lee C.M., Meyer W. 2005. Survey of simple sequence repeats in completed fungal genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 22(3): 639–649. https://doi.org/10.1093/molbev/msi057

Kashi Y., King D., Soller M. 1997. Simple sequence repeats as a source of quantitative genetic variation. *Trends in Genetics*, 13(2): 74–78. https://doi.org/10.1016/s0168-9525(97)01008-1

Kashi Y., King D.G. 2006. Simple sequence repeats as advantageous mutators in evolution. *Trends in Genetics*, 22(5): 253–259. https://doi.org/10.1016/j.tig.2006.03.005

Kim D.W., Nam J., Nguyen H., Lee J., Choi Y., Choi J. 2020. Draft Genome Sequence of the White-Rot Fungus *Schizophyllum Commune* IUM1114-SS01. *Mycobiology*, 49(1), 86–88. https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1843222

Kirungu J.N., Deng Y., Cai X., Magwanga R.O., Zhou Z., Wang X., Wang Y., Zhang Z., Wang K., Liu F. 2018. Simple sequence repeat (SSR) genetic linkage map of D genome diploid cotton derived from an interspecific cross between *Gossypium davidsonii* and *Gossypium klotzschianum*. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 204: 1–21. https://doi.org/10.3390/ijms19010204

Koressaar T., Lepamets M., Kaplinski L., Raime K., Andreson R., Remm M. 2018. Primer3_masker: integrating masking of template sequence with primer design software. *Bioinformatics*, 34(11): 1937–1938. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty036

Lagercrantz U., Ellegren H., Andersson L. 1993. The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. *Nucleic Acids Research*, 21(5): 1111–1115. https://doi.org/10.1093/nar/21.5.1111

Lee H.Y., Raveendar S., An H., Oh Y.L., Jang K.Y., Kong W.S., Ryu H., So Y.S., Chung J.W. 2018. Development of polymorphic simple sequence repeat markers using high-throughput sequencing in button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Mycobiology*, 46(4): 421–428. https://doi.org/10.1080/12298093.2018.1538072

Li H., Wu S., Ma X., Chen W., Zhang J., Duan S., Gao Y., Kui L., Huang W., Wu P., Shi R., Li Y., Wang Y., Li J., Guo X., Luo X., Li Q., Xiong C., Liu H., Gui M., Dong Y. 2018. The Genome Sequences of 90 Mushrooms. *Scientific reports*, 8(9982): 1–5. https://doi.org/10.1038/s41598-018-28303-2

Lim S., Notley-McRobb L., Lim M., Carter D.A. 2004. A comparison of the nature and abundance of microsatellites in 14 fungal genomes. *Fungal Genetics and Biology*, 41(11): 1025–1036. https://doi.org/10.1016/j.fgb.2004.08.004

Liu J. X., Cai Y. N., Jiang W. Y., Li Y. G., Zhang Q. F., Pan, H. Y. 2020. Population Structure and Genetic Diversity of Fungi Causing Rice Seedling Blight in Northeast China Based on Microsatellite Markers. *Plant disease*, 104(3): 868–874. https://doi.org/10.1094/PDIS-08-19-1620-RE

Mrazek J., Guo X., Shah A. 2007. Simple sequence repeats in prokaryotic genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(20): 8472–8477. https://doi.org/10.1073/pnas.0702412104

Ohm R.A., de Jong J.F., Lugones L.G., Aerts A., Kothe E., Stajich J.E., de Vries R.P., Record E., Levasseur A., Baker S.E., Bartholomew K.A., Coutinho P.M., Erdmann S., Fowler T.J., Gathman A.C., Lombard V., Henrissat B., Knabe N., Kües U., Lilly W.W., Lindquist E., Lucas S., Magnuson J.K., Piumi F., Raudaskoski M., Salamov A., Schmutz J., Schwarze F.W., van Kuyk P.A., Horton J.S., Grigoriev I.V., Wösten H.A. 2010. Genome sequence of the model mushroom Schizophyllum commune. *Nature Biotechnology*, 28(9): 957–963. https://doi.org/10.1038/nbt.1643

Schllotteroer C., Amos B., Tautz D. 1991. Conservation of polymorphic simple sequence loci in cetacean species. *Nature*, 354: 63–65. https://doi.org/10.1038/354063a0

Shakyawar S.K., Joshi B.K., Kumar D. 2009. SSR repeat dynamics in mitochondrial genomes of five domestic animal species. *Bioinformation*, 4(4): 158–163. https://doi.org/10.6026/97320630004158

Singh A.K., Chaurasia S., Kumar S., Singh R., Kumari J., Yadav M.C., Singh N., Gaba S., Jacob S.R. 2018. Identification, analysis and development of salt responsive candidate gene based SSR markers in wheat. *BMC Plant Biology*, 18(249): 1–15. https://doi.org/10.1186/s12870-018-1476-1

Stallings R.L, Ford A.F., Nelson D., Torney D.C., Hildebrand C.E., Moyzis R.K. 1991. Evolution and

distribution of (GT)n repetitive sequences in mammalian genomes. *Genomics*, 10: 807–815. https://doi.org/10.1016/0888-7543(91)90467-s

Tautz D., Renz M. 1984. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic acids research*, 12(10): 4127–4138. https://doi.org/10.1093/nar/12.10.4127

Wang Y., Chen, M.J., Wang H., Wang J.-F., Bao D.P. 2014. Microsatellites in the genome of the edible mushroom, *Volvariella volvacea*. *BioMed Research International*, 2014(281912): 1–10. https://doi.org/10.1155/2014/281912

Wang X., Wang L. 2016. GMATA: an integrated software package for genome-scale SSR mining, marker development and viewing. *Frontiers in Plant Science*, 7(1350): 1–11. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01350

Wang L., Zhang Y., Zhu X., Zhu X., Li D., Zhang X., Gao Y., Xiao G., Wei X., Zhang X. 2017. Development of an SSR-based genetic map in sesame and identification of quantitative trait loci associated with charcoal rot resistance. *Scientific Reports*, 7(8349): 1–8. https://doi.org/10.1038/s41598-017-08858-2

Yin B., Wang H., Zhu P., Weng S., He J., Li C. 2019. A Polymorphic (CT)*n*-SSR Influences the Activity of the *Litopenaeus vannamei IRF* Gene Implicated in Viral Resistance. *Frontiers in Genetics*, 10(1257): 1–10. https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01257

Zhao X., Tan Z., Feng H., Yang R., Li M., Jiang J., Shen G., Yu R. 2011. Microsatellites in different Potyvirus genomes: survey and analysis. *Gene*, 488(1–2): 52–56. https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.08.016

Рекомендує до друку М.М. Сухомлин

Бойко С.М. 2022. **Розробка мікросателітних маркерів для *Schizophyllum commune* (*Agaricales, Basidiomycota*) на підставі аналізу його геному**. *Український ботанічний журнал*, 79(1): 27–34.

Інститут еволюційної екології НАН України, вул. акад. Лебедєва 37, Київ 03143, Україна

Реферат. Прості повторювані послідовності ДНК (SSR) на сьогодні є найпопулярнішим джерелом генетичних маркерів, що використовуються в популяційній генетиці, філогенетиці та генетичному картографуванні. У роботі проведено аналіз геному гриба *Schizophyllum commune* для пошуку послідовностей SSR та синтезу ДНК-маркерів. Встановлено велику кількість нуклеотидних повторів, збагачених на G та C. Зафіксовано 336 мононуклеотидних мотивів з кількістю повторів більше десяти. Ідентифіковано 2020 нуклеотидних повторів, з яких 97,4% складають ди- (68,2%) та тринуклеотиди (29,2%). Загальна кількість унікальних SSR локусів, до яких було розроблено парні праймери, склала 1920. Наведено послідовності ПЛР-праймерів для унікальних SSR локусів геному *S. commune*. Серед синтезованих двадцяти двох SSR маркерів до геному *S. commune* на зразках свіжовиділеної ДНК амплікони утворювали 64%.

Ключові слова: геном, мотив, праймери, *Schizophyllum commune*, SSR маркери