

**Conclusions.** The got results testify that component composition of 7S and 11S globulins in the soybean F<sub>4</sub> hybrids is polymorphic. Further researches of these indexes on the soybean F<sub>5</sub> hybrids will allow study the character of inheritance of component composition of 11S and 7S globulins, which responsible for quality of products from soybean. The results provide a basis to improve soybean protein quality and breed high quality variety.

*Key words:* *Glicine max* L., 11S globulin, 7S globulin.

УДК 575.17: 582.923.1

АНДРЕЄВ І.О.<sup>1</sup>, МОСУЛА М.З.<sup>2</sup>, МЕЛЬНИК В.М.<sup>1</sup>, БУБЛИК О.М.<sup>1</sup>, КОНВАЛЮК І.І.<sup>1</sup>, ДРОБИК Н.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут молекулярної біології і генетики НАН України,

Україна, 03680, м. Київ, вул. Акад. Заболотного, 150, e-mail: i.o.andreev@imbg.org.ua

<sup>2</sup> Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка, Україна, 46027, м. Тернопіль, вул. М. Кривоноса, 2, e-mail: maryanamosula@gmail.com

### ПОРІВНЯННЯ ПОКАЗНИКІВ ІНФОРМАТИВНОСТІ ПЛР-МАРКЕРІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ ГЕНЕТИЧНОГО РІЗНОМАНІТТЯ НА ПРИКЛАДІ *GENTIANA LUTEA* L.

Одними з найефективніших інструментів дослідження генетичного різноманіття рослин є методи молекулярно-генетичного аналізу на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), які дозволяють отримати інформацію про генетичну структуру виду, унікальність генофонду окремих популяцій. Необхідною передумовою використання таких методів є пошук оптимальних молекулярно-генетичних маркерів та оцінка їхньої інформативності.

Для оцінки інформативності маркерів запропоновано кілька показників. Зокрема, це показник інформативності РІС (*polymorphism information content*), який було спершу використано для оцінки інформативності маркерних локусів під час побудови карт генетичного зчеплення у людини [1], а пізніше разом із індексом інформативності маркерів (*marker index*, MI), що дорівнює добутку РІС на кількість поліморфних локусів, застосовано для оцінки різних типів ПЛР-маркерів [2]. Роздільну здатність (*resolving power*, Rp) було запропоновано як показник здатності праймерів або систем ПЛР-маркерів розрізняти зразки між собою [3]. Розпізнавальна здатність (*discrimination power*, D) та її границя за умови прямування кількості аналізованих зразків до нескінченності (*discriminating power*, D<sub>1</sub>) відображають ймовірність того, що два довільно обрані індивіди мають різні набори ПЛР-продуктів, і таким чином відрізняються один від одного [4].

Метою нашого дослідження було порівняння та вибір найбільш ефективних для оцінки генетичного різноманіття показників

інформативності ПЛР-маркерів. Як модельний об'єкт було використано тирлич жовтий (*Gentiana lutea* L.) – рідкісну реликтову рослину, яка на території України зростає лише в Карпатах. У зв'язку зі скороченням ареалу, зменшенням чисельності та порушенням структури популяцій внаслідок дії біотичних та антропогенних чинників, вид занесений до Червоної книги України (2009 р.) [5]. Цінність цієї лікарської рослини та потенційна потреба в сировині зумовлює необхідність оцінки її ресурсів в Україні та визначення можливих засобів їх збереження та відновлення. Для розширення спектру ділянок геному, що відрізняються за функціональним значенням, в генетичному аналізі було використано ПЛР-маркери кількох типів, а саме: ISSR-маркери, які виявляють міжмікросателітні ділянки, IRAP-, асоційовані з кінцевими послідовностями LTR-ретротранспозонів, а також CDDP- та RGAP-маркери, що можуть бути безпосередньо пов'язані із кодувальними ділянками функціонально важливих генів стійкості до хвороб та відповіді на стрес.

#### Матеріали і методи

Для дослідження використали по 15 рослин *G. lutea* з двох популяцій, які знаходяться на хребті Свидовець в Українських Карпатах (полонина Крачунеска, г. Трояска-Татарука). Використання в аналізі рослин з двох популяцій дозволило певною мірою врахувати міжпопуляційні відмінності, оскільки *G. lutea* належить до видів з фрагментованим ареалом, для яких існує висока ймовірність значної диференціації популяцій.

ДНК виділяли зі свіжих молодих листків за стандартним протоколом [6]. Для ПЛР-аналізу використали 10 RAPD-, 9 ISSR- [7, 8], 9 CDDP- та 7 пар RGAP-праймерів [9, 10], а також 5 IRAP-праймерів, люб'язно наданих Р.М. Календарем (МТТ/ВІ Plant Genomics, Institute of Biotechnology, University of Helsinki). Назви та послідовності праймерів наведені в табл. 1. Умови проведення ПЛР та фракціонування продуктів ампліфікації за допомогою гель-електрофорезу наведено у роботах [11].

Для оцінки інформативності праймерів розраховували наступні показники:

- загальну кількість ампліконів (ЗКА) та частку поліморфних ампліконів (Р);

- показник інформативності (PIC) [1]:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^I p_i^2, \text{ де } p_i - \text{ частота } i\text{-ї алелі}$$

маркера;  $I$  – число алелей маркера;

- індекс інформативності маркерів (MI) [2]:  $MI = PIC \times \text{кількість поліморфних локусів}$ ;

- роздільну здатність (Rp) [3]:  $Rp = \sum Ib$ , де  $Ib$  – інформативність амплікона, яку визначають, виходячи із частки генотипів, що його містять ( $p$ ):  $Ib = 1 - (2 \times |0,5 - p|)$ ;

- розпізнавальну здатність (D) [4]:  $D = 1 - C$ , де  $C$  – ймовірність невизначеності під час диференціації зразків, а саме того, що два довільно обрані генотипи з вибірки  $n$  будуть мати однакові набори фрагментів ДНК:

$$C = \sum_{i=1}^I p_i \frac{n \cdot p_i - 1}{n - 1};$$

- границя D за прямування числа зразків до нескінченості ( $D_L$ ) [4] дає оцінку розпізнавальної здатності праймера, яку можна розглядати як варіант PIC, розрахований на основі частот наборів фрагментів, продукованих праймером:

$$\lim(D_j) = \lim(1 - \sum_{i=1}^I p_i \frac{n \cdot p_i - 1}{n - 1}) = D_L = 1 - \sum_{i=1}^I p_i^2$$

За частотами наборів ПЛР-продуктів  $p_i$ , отриманих з використанням окремих праймерів, визначали розрахункове число пар зразків, які не може розрізнити праймер (ND) у вибірці з  $n$

$$\text{зразків: } ND = (n \times (n-1)/2) \times \sum_{i=1}^I p_i \frac{n \cdot p_i - 1}{n - 1} \quad [4].$$

Для певної комбінації з кількох ( $k$ ) праймерів за умови виконання гіпотези про незалежність утворення наборів ПЛР-продуктів цей показник

$$\text{дорівнює: } ND_k = (n \times (n-1)/2) \times \prod_{j=1}^k \sum_{i=1}^I p_i \frac{n \cdot p_i - 1}{n - 1}.$$

Зв'язок між показниками інформативності праймерів розраховували за допомогою коефіцієнта кореляції Спірмена ( $r_s$ ).

### Результати та обговорення

У результаті ПЛР з використанням 40 праймерів різного типу для 30 зразків *G. lutea* із двох популяцій отримано 495 продуктів ампліфікації. Кількість продуктів на праймер становила від 4 до 26, в середньому – 12,4. З цих фрагментів 395 (79,8%) були поліморфними, їх частка для окремих праймерів варіювала від 0 до 1, і в середньому становила 0,743. На основі частот ампліконів та наборів фрагментів, продукованих окремими праймерами, для кожного з них було розраховано показники інформативності. Отримані значення наведено в табл. 1.

Значення показника інформативності PIC використаних праймерів варіювали у діапазоні від 0 до 0,5, і в середньому становили 0,45; індексу інформативності маркерів MI – від 0 до 9,5, в середньому – 3,4; роздільної здатності Rp – від 0 до 12,3, в середньому – 5,5; і розпізнавальної здатності  $D_L$  – від 0 до 0,967, в середньому – 0,821. Найбільш інформативними за усіма показниками, крім PIC, виявилися праймери UBC#811 та UBC#807, а найменш інформативними – KNOX-F, KNOX-R, NLRR for/NLRR rev (табл. 1).

Таблиця 1. Показники інформативності праймерів, використаних для ПЛР-аналізу *G. lutea*

Тип маркера	№	Праймер/ пара праймерів	ЗКА	Р	PIC	MI	Rp	D	$D_L$	ND <sub>30</sub> розрах.	ND <sub>30</sub> експер
RAPD	1	A01	10	0,900	0,499	2,495	7,400	0,830	0,802	74	74
	2	A03	10	0,700	0,453	1,812	6,933	0,579	0,560	183	196
	3	A05	7	0,857	0,491	1,473	4,067	0,697	0,673	132	132
	4	A07	13	0,923	0,42	4,62	5,400	0,986	0,953	6	6
	5	A13	10	1,000	0,493	3,451	6,267	0,894	0,864	46	46
	6	A18	16	0,938	0,48	6,72	7,733	0,989	0,956	5	5
	7	A19	15	0,933	0,456	5,928	7,333	0,975	0,942	11	11
	8	B01	12	0,917	0,464	5,104	5,467	0,977	0,944	10	10

	9	B07	15	0,933	0,496	5,952	8,667	0,970	0,938	13	14
	10	B08	14	0,857	0,469	5,628	4,667	0,910	0,880	39	39
ISSR	1	UBC#807	18	1,000	0,484	8,712	11,93 3	1,000	0,967	0	0
	2	UBC#809	14	0,929	0,461	5,993	7,667	0,972	0,940	12	12
	3	UBC#810	10	0,700	0,493	2,958	2,800	0,802	0,776	86	86
	4	UBC#811	26	1,000	0,380	9,5	12,33 3	0,998	0,964	1	1
	5	UBC#827	8	0,750	0,439	2,195	3,867	0,931	0,900	30	30
	6	UBC#835	19	0,947	0,480	7,68	4,667	0,984	0,951	7	7
	7	UBC#840	15	0,933	0,491	6,874	7,200	0,986	0,953	6	5
	8	UBC#857	15	0,800	0,470	4,7	4,933	0,851	0,842	56	56
	9	UBC#889	17	0,824	0,443	6,202	8,733	0,986	0,953	6	7
CDDP	1	WRKY-A-F	15	0,667	0,446	3,568	5,000	0,878	0,849	53	53
	2	WRKY-A-R	13	0,692	0,46	3,68	7,333	0,906	0,876	41	41
	3	WRKY-B	10	0,700	0,468	3,276	4,400	0,855	0,827	63	63
	4	MYB	16	0,938	0,5	5,5	7,667	0,982	0,949	8	8
	5	ERF-F	16	0,813	0,487	5,357	9,133	0,982	0,949	8	8
	6	KNOX-F	5	0	0	0	0	0	0	435	465
	7	KNOX-R	4	0,750	0,267	0,267	1,127	0,578	0,558	184	184
	8	MADS-A	14	0,714	0,422	2,954	4,333	0,972	0,940	12	12
	9	ABP1-2	11	0,727	0,42	1,68	6,467	0,694	0,671	133	133
RGAP	1	RLRR for RLRR rev	9	0	0,472	2,360	6,733	0,756	0,731	106	106
	2	XLRR-INV1 XLRR-INV2	11	0,545	0,442	0,884	3,133	0,883	0,853	51	51
	3	Pto kin3 Pto kin4	5	0	0,485	2,425	3,200	0,811	0,784	82	82
	4	XLRR for XLRR rev	11	0,636	0,410	2,050	2,733	0,857	0,829	62	62
	5	NLRR for NLRR rev	5	0,400	0,358	2,506	1,667	0,692	0,669	134	138
	6	Cre3Ploop Cre3-k3	11	0,727	0,478	1,912	5,067	0,869	0,840	57	57
	7	NLRR-INV1 NLRR-INV2	8	0,625	0,467	2,335	0,733	0,561	0,542	191	195
IRAP	1	653	15	0,733	0,481	3,367	5,000	0,894	0,864	46	46
	2	1962	15	0,933	0,495	6,435	6,133	0,982	0,949	8	8
	3	866	15	0,800	0,5	5	7,533	0,956	0,924	19	19
	4	696	8	0,625	0,444	1,776	1,333	0,710	0,687	126	126
	5	675	14	0,857	0,484	3,872	3,133	0,823	0,796	77	77

Примітка: ND<sub>30</sub> розрах. та ND<sub>30</sub> експер. – розрахункова та реальна кількість нерозпізнаних пар у вибірці з 30 зразків відповідно.

Для кількісної оцінки зв'язку між використаними показниками інформативності праймерів було розраховано коефіцієнти рангової кореляції Спірмена (табл. 2). Виявлено дуже високу силу зв'язку між D<sub>L</sub> і кількістю нерозпізнаних пар, а також між MI та часткою поліморфних ампліконів. Це зумовлено тим, що D<sub>L</sub> розраховується на основі величини невизначеності, яка власне відображає кількість нерозпізнаних пар, а MI є добутком PIC та

кількості поліморфних ампліконів. Між іншими показниками, за виключенням PIC, сила зв'язку була високою або середньою. Достовірно значимий слабкий зв'язок виявлено лише між PIC та часткою поліморфних ампліконів.

Отримані результати означають, що всі використані показники, за винятком PIC, певною мірою характеризують ефективність ПЛР-маркерів.

Таблиця 2. Коефіцієнт кореляції Спірмена ( $r_s$ ) між параметрами інформативності праймерів, використаних для оцінки генетичного поліморфізму *G. lutea*

Показники	Rp	PIС	MI	D <sub>L</sub>	ЗКА	P	ND <sub>30</sub> експер.
Rp							
PIС	0,361 <sup>NS</sup>						
MI	0,688*	0,365 <sup>NS</sup>					
D <sub>L</sub>	0,687*	0,210 <sup>NS</sup>	0,855*				
ЗКА	0,678*	0,286 <sup>NS</sup>	0,834*	0,805*			
P	0,627*	0,419**	0,752*	0,723*	0,932*		
ND <sub>30</sub> експер.	-0,657*	-0,217 <sup>NS</sup>	-0,834*	-0,997*	-0,830*	-0,727*	

Примітка: \* –  $p < 0,001$ ; \*\* –  $p = 0,05$ ; <sup>NS</sup> –  $p > 0,05$ .

Загальна кількість ампліконів та частка поліморфних ампліконів – важливі показники придатності окремих праймерів для оцінки генетичного поліморфізму, котрі можуть бути використані на етапі первинного скринінгу. Кількість утворюваних праймером ампліконів визначає теоретично можливу кількість унікальних наборів фрагментів, які здатен утворити праймер. З іншого боку, частка поліморфних ампліконів характеризує реальну наявність у особин дослідженої вибірки відмінностей між послідовностями геному, які визначають утворення ПЛР-продуктів. Водночас, ці показники ніяк не враховують особливостей розподілу поліморфних ампліконів серед досліджених генотипів, зокрема їхні частоти у вибірці зразків. Частота поліморфного амплікону має важливе значення, оскільки найбільш інформативним для генетичного аналізу він є саме за умови рівномірного представлення алелей поліморфного локуса. Спробу врахування частот поліморфних локусів було зроблено в показниках PIС та похідному від нього MI, а також Rp. Ми не знайшли кореляції PIС з рештою показників, тоді як MI та Rp, виявляють зв'язок середньої або високої сили між собою та з іншими показниками.

Коли справа стосується мультилокусних маркерів, стає очевидною необхідність врахування й іншої особливості поліморфних ампліконів – незалежності їхнього розподілу в наборах фрагментів різних генотипів. Цю особливість враховує лише один із використаних показників, а саме розпізнавальна здатність, яка розраховується з частот не окремих ампліконів, а їх наборів. Показник D<sub>L</sub> також безпосередньо пов'язаний із кількістю пар зразків, які нездатний розпізнати праймер у дослідженій вибірці. Порівняння кількості нерозпізнаних пар зразків, встановленої експериментально, та теоретично розрахованої за частотами наборів фрагментів, показало значну подібність цих

показників для всіх праймерів (табл. 1). Ці результати свідчать, що розпізнавальну здатність можна успішно застосовувати як показник інформативності при відборі праймерів для оцінки генетичного різноманіття виду. Поряд із цим, ймовірність невизначеності С, на основі якої розраховується розпізнавальна здатність D (див. Матеріали і методи), може бути використана для визначення мінімального необхідного набору праймерів, потрібного для диференціації аналізованої вибірки з N зразків. Результати таких розрахунків наведено нижче.

Розрахунок числа нерозпізнаних пар на основі частот утворюваних наборів ПЛР-продуктів (табл. 3) показав, що використання комбінації з двох праймерів з найвищим значенням D<sub>L</sub> недостатньо для диференціації окремих генотипів у вибірці 500 особин, водночас комбінація з будь-яких трьох таких праймерів теоретично здатна успішно розпізнати до 1000 зразків.

### Висновки

Проведене дослідження показало, що всі використані показники, за винятком показника інформативності PIС, мають зв'язок середньої та високої сили між собою, а отже певною мірою характеризують інформативність ПЛР-маркерів, призначених для генетичного аналізу. Водночас, найефективнішим є показник розпізнавальна здатність, який найбільш повно враховує особливості розподілу поліморфних ампліконів серед досліджених зразків, а також дозволяє розрахувати кількість пар зразків, що не можуть бути розпізнані праймером або комбінацією праймерів у вибірці певного розміру.

*Роботу виконано за фінансової підтримки Цільової комплексної міждисциплінарної програми наукових досліджень НАН України «Фундаментальні основи молекулярних та клітинних біотехнологій» в рамках проекту «Порівняльна геноміка у діагностиці генофонду деяких рідкісних видів рослин України».*

Таблиця 3. Число нерозпізнаних пар (ND) для різних комбінацій праймерів з найбільшим значенням  $D_L$ , розраховане за умови незалежності утворення наборів ПЛР-продуктів для 500 та 1000 зразків

Комбінація праймерів	ND <sub>500</sub> розрах.	ND <sub>1000</sub> розрах.
UBC#811 + A18	3,296	13,20
UBC#811 + UBC#889	3,940	15,84
UBC#811 + A18 + A07	0,046	0,182
UBC#811 + A18 + UBC#889	0,046	0,182
UBC#811 + A18 + UBC#840	0,046	0,182
UBC#811 + A18 + UBC#835	0,050	0,212
UBC#811 + UBC#840 + A07	0,055	0,218

### Література

1. Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // *Am. J. Hum. Genet.* – 1980. – 32. – P. 314–331.
2. Powell W., Morgante M., Andre C., Hanfey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis // *Mol. Breeding.* – 1996. – 2. – P. 225–228.
3. Prevost A., Wilkinson M.J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars // *Theor. Appl. Genet.* – 1999. – 98. – P. 107–112.
4. Tessier C., David J., This P., Boursiquot J.M., Charrier A. Optimization of the choice of molecular markers for varietal identification in *Vitis vinifera* L. // *Theor. Appl. Genet.* – 1999. – 98. – P. 171–177.
5. Червона книга України. Рослинний світ / За ред. Я.П. Дідуха. – К.: Глобалконсалтинг, 2009. – 900 с.
6. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh herbarium and mummified plant tissues // *Plant Mol. Biol.* – 1985. – 5. – P. 69–76.
7. Твардовська М.О., Страшнюк Н.М., Мельник В.М., Конвалюк І.І., Кунах В.А. RAPD-аналіз геномного поліморфізму деяких видів роду *Gentiana* L. флори України // *Доповіді НАН України.* – 2009. – 5. – С. 200–204.
8. Конвалюк І.І., Мельник В.М., Дробик Н.М., Кравець Н.Б., Твардовська М.О., Кунах В.А. RAPD- і ISSR-аналіз генетичної мінливості у культурі тканин та органів тирличу звичайного (*Gentiana pneumonanthe* L.) // *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів.* – 2009. – 9. – С. 22–31.
9. Collard B.C.Y., Mackill D.J. Conserved DNA-Derived Polymorphism (CDDP): a simple and novel method for generating DNA markers in plants // *Plant Mol. Biol. Rep.* – 2009. – 27. – P. 558–562.
10. Dong P., Wei Y.-M., Chen G.-Y., Li W., Nevo E., Zheng Y.-L. Resistance gene analog polymorphisms (RGAPs) in wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides*) and their ecological associations // *Genetic Resources and Crop Evolution.* – 2009. – 56. – P. 121–136.
11. Мосула М.З., Конвалюк І.І., Мельник В.М., Бублик О.М., Андреев І.О., Дробик Н.М., Кунах В.А. Аналіз генетичної різноманітності популяції *Gentiana lutea* L. методом маркування міжретротранспозонних послідовностей (IRAP-ПЛР) // *Фізіологія рослин і генетика.* – 2014. – 46, № 1. – С. 45–55.
12. Мосула М.З., Конвалюк І.І., Мельник В.М., Андреев І.О., Бублик О.М., Дробик Н.М., Кунах В.А. Генетичне різноманіття популяцій *Gentiana lutea* L. з хребта Свидівець Українських Карпат // *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів.* – 2013. – 11, № 2. – С. 250–259.

**ANDREEV I.O.<sup>1</sup>, MOSULA M.Z.<sup>2</sup>, MEL'NYK V.M.<sup>1</sup>, BUBLYK O.M.<sup>1</sup>, KONVALYUK I.I.<sup>1</sup>, DROBYK N.M.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Molecular Biology and Genetics NAS of Ukraine, Ukraine, 03680, Kyiv, Akad. Zabolotnogo str., 150, e-mail: i.o.andreev@imbg.org.ua*

<sup>2</sup> *Ternopil National Volodymyr Hnatiuk Pedagogical University, Ukraine, 46027, Ternopil, M. Kryvonis str., 2, e-mail: maryanamosula@gmail.com*

### COMPARISON OF INFORMATIVENESS INDICES OF PCR-BASED MARKERS FOR GENETIC DIVERSITY ANALYSIS AS EXEMPLIFIED BY *GENTIANA LUTEA* L.

The *aim* of the work was to compare informativeness indices of PCR-based markers for genetic diversity assessment and select the most efficient from them. *Methods.* The study involved 30 plants from two *G. lutea* populations (Svydivets ridge, Ukrainian Carpathians) which were subjected to RAPD, ISSR, CDDP, RGAP, and IRAP analyses. To evaluate the efficiency of the primers, the total number of generated bands,

the proportion of polymorphic bands, the resolving power (Rp), the discrimination power (D), the discriminating power ( $D_L$ ), the polymorphism information content (PIC), the marker index (MI) and the number of non-differentiated pairs (ND) were calculated. **Results.** The informativeness indices were calculated for each primer based on the frequency of individual bands and banding patterns. This was followed by correlation analysis of the indices. A very strong relationship was found between  $D_L$  and ND, and between MI and proportion of polymorphic amplicons ( $p < 0.001$ ). There were also high or moderate significant correlations between other parameters, with the exception of PIC. The estimated number of non-differentiated pairs and that determined experimentally were very close for all primers. **Conclusions.** All of the informativeness indices, except PIC, describe the efficiency of PCR-based markers in some way. The comparison of different markers showed that the most informative was the discriminating power. It can be used successfully to select the primers for genetic diversity assessment, while the confusion probability (C) can be used to determine the minimal set of primers necessary to discriminate between the genotypes in a sample of N accessions.

**Key words:** discriminating power ( $D_L$ ), informativeness indices of markers, PCR-based markers.

УДК 577.21:633.852

БАЄР Г.Я.<sup>2</sup>, БОЙЧУК Ю.М.<sup>2</sup>, ПРКО Я.В.<sup>2</sup>, КОРХОВИЙ В.І.<sup>2</sup>, РАХМЕТОВ Д.Б.<sup>1</sup>,  
ЄМЕЦЬ А.І.<sup>2</sup>, БЛЮМ Я.Б.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Національний ботанічний сад ім. М.М. Гришка НАН України,  
Україна, 01014, м. Київ, вул. Тимірязєвська, 1

<sup>2</sup> Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України,  
Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2А, e-mail: galinabayer@mail.ru

### ДОСЛІДЖЕННЯ СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ РИЖІЮ ПОСІВНОГО (*CAMELINA SATIVA* (L.) CRANTZ) ЗА ДОПОМОГОЮ ISSR-АНАЛІЗУ

Інтерес до біопалива спонукав дослідників критично оцінити альтернативні джерела сировини для виробництва біодизелю. Один із способів подолати попит на олії – використання нетрадиційних олійних рослин. До таких рослин, що не використовуються широко в харчовій промисловості, належить *Camelina sativa* (L.) CRANTZ (рижій посівний) родини Brassicaceae, який є найбільш перспективною в цьому відношенні культурою. Ще на початку ХХ століття рижій вирощувався на невеликих площах в Україні, Росії, Європі, головним чином з метою отримання олії для освітлення та фарбування. Однак протягом тривалого часу ця культура вважалася бур'яном, що засмічує посіви льону. Поновлення інтересу до *C. sativa* в якості сировини для отримання біопалива пов'язане з його посухостійкістю і невибагливістю до родючості ґрунтів. Рижій, як скоростигла культура, вирізняється коротким вегетаційним періодом, високою адаптаційною здатністю до абіотичних стресових факторів, стійкістю до хвороб та шкідників [1, 2]. У відділі нових культур НБС ім. М.М. Гришка НАН України створено цінний генофонд рижію [3]. До того ж важливість *C. sativa* для виробництва біодизеля вже добре доведено [4]. Олія та

біодизель з рижію були використані в якості палива у випробуваннях двигуна з багатобіаючими результатами [4, 5]. Незважаючи на свій потенціал щодо отримання олії, на цей час інформація про стан генофонду цього виду, особливо новостворених сортозразків, залишається досить обмеженою.

Зі збільшенням кількості нових подібних або тісно пов'язаних сортів рижію все актуальнішим стає процес реєстрації створеного сорту, його сертифікації та захисту авторських прав селекціонерів. Молекулярні маркери відрізняються високим рівнем поліморфізму між сортами і можуть ефективно використовуватися для оцінки загальних генетичних характеристик рослин [6]. Тому метою нашої роботи було за допомогою ISSR-аналізу вивчити генетичну мінливість і диференціацію деяких форм та сортів *C. sativa*, зробити їх генетичне профілювання.

#### Матеріали і методи

Для ISSR-аналізу використовували 8 форм та 4 сорти рижію посівного (*Camelina sativa*) з колекції Національного ботанічного саду ім. М.М. Гришка, насіння яких висівали в ґрунт в умовах культуральної кімнати. ДНК екстрагували з 10-денних проростків за допомо-