

Оцінка інбредних ліній кукурудзи за ознакою холодостійкості та SSR маркерами

В. Л. Жемойда¹, Л. М. Присяжнюк^{2*}, С. А. Красновський³,
Н. В. Башкірова¹, Ю. В. Шитікова², С. І. Мельник²

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв Оборони, 15, м. Київ, 03041, Україна

²Український інститут експертизи сортів рослин, вул. Генерала Родімцева, 15, м. Київ, 03041, Україна, e-mail: prysiazhniuk_l@ukr.net

³KWS-Україна, б-р Дружби Народів, 19, м. Київ, 01042, Україна

Мета. Класифікація вихідного матеріалу кукурудзи за ступенем холодостійкості, ідентифікація самозапилених ліній кукурудзи в лабораторних і польових умовах за холодостійкістю, основними господарсько-цінними показниками та їхнє генотипування на основі SSR маркерів. **Методи.** Польові та лабораторні методи, молекулярно-генетичний аналіз. **Результати.** У результаті досліджень на основі *cold test* проведено ранжування самозапилених ліній кукурудзи за рівнем холодостійкості. На результати ранжування не впливав тип зерна, оскільки до найбільш холодостійких належать лінії з різним типом зерна. Польова схожість ліній кукурудзи варіювала залежно від строку сівби та становила 32,1–87,8% за першого (6–6,5 °C) строку сівби, 41,8–88,5% – за другого (8–8,5 °C) та 51,1–90,0% – за третього (10–10,5 °C). Самозапилені лінії HLG 1203, HLG 1238, Co 255, UCH 37 та FV 243, Q170, AK 135, F2, L155 та P165 мають найкращу регенеративну здатність та найвищу схожість за холодного пророщування насіння та її збереження відносно контролю. За показниками урожайності самозапилених ліній визначено, що вони по різному реагували на строки сівби. Визначений генетичний поліморфізм холодостійких ліній за 5 SSR маркерами. Відповідно до отриманих результатів встановлено наявність від 3 до 7 алелів. Індекс поліморфності локусу (PIC) склав 0,56–0,86. За трьома маркерами – bnlg1129, bnlg1782 та phi064 у досліджуваних ліній було виявлено внутрішньолінійний поліморфізм. Результати досліджень дозволили визначити 4 кластери, які відобразили ступінь генетичної близькості за досліджуваними маркерами. Лінії Ak 135 та Ak 153, які увійшли в один кластер є найбільш спорідненими, а найбільш віддаленими – Co225 та Q 170. Отримані дані свідчать, що досліджувані лінії кукурудзи сформували кластери відповідно до їхнього походження і деякі – відповідно до їхньої холодостійкості. **Висновки.** За результатами досліджень виділено 7 самозапилених ліній кукурудзи (Co 255, HLG 1203, HLG 1238, Q 170, UCH 37, Ak 135, FV 243), які є цінним вихідним матеріалом у селекції на холодостійкість.

Ключові слова: самозапильні лінії кукурудзи; холодостійкість; SSR маркери; ДНК.

Вступ

Кукурудза є однією з найпродуктивніших культур, які вирощуються в Україні. Площі

під цією культурою з кожним роком стрімко зростають завдяки розширенню зони її вирощування в північних регіонах країни. Рівень урожайності гібридів кукурудзи на сьогодні досягає 14–16 т/га навіть у зоні Північного Лісостепу, проте, у зоні Полісся він значно нижчий, у першу чергу за рахунок нестабільних погодних умов у весняний період.

Через зміни клімату, створення і впровадження у виробництво нових високопродуктивних гібридів кукурудзи, адаптованих до умов різних природно-кліматичних зон, значно зросли посівні площі в зонах Полісся та Лісостепу. Зокрема, за останні 15 років площі під кукурудзою на Поліссі збільшилися

Vitalii Zhemoida

<http://orcid.org/0000-0002-4411-1592>

Larysa Prysiazhniuk

<http://orcid.org/0000-0003-4388-0485>

Serhii Krasnovskyi

<http://orcid.org/0000-0001-9724-4965>

Natalia Bashkirova

<https://orcid.org/0000-0001-6940-5194>

Yuliia Shytikova

<http://orcid.org/0000-0002-1403-694X>

Serhii Melnyk

<https://orcid.org/0000-0002-5514-5819>

майже у 8, а в Лісостепу – у 6 разів. У Степу, де останнім часом спостерігається дефіцит вологи, вони залишилися практично незмінними [1]. Одним із факторів розширення посівних площ під цією культурою є використання скоростиглих холодостійких гібридів, які здатні формувати високі врожаї в цих регіонах [2–4].

Оцінка вихідного селекційного матеріалу за ступенем генетичної близькості дозволяє значно скоротити селекційний процес. Сучасні методи ДНК аналізу, зокрема ПЛР-аналіз, дозволяють визначити внутрішньовидову мінливість, що робить можливим класифікацію сортів, ліній і форм у залежності від їхніх генетичних взаємовідносин та залучити в селекційний процес найбільш віддалені лінії [8, 9].

Молекулярні маркери для оцінки генетичного різноманіття ліній кукурудзи застосовуються для визначення взаємозв'язків між досліджуваними генотипами. Використовують різноманітні молекулярні маркери на основі запасних білків та ДНК [10, 11]. Серед ДНК маркерів широко використовують маркери на основі полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), зокрема мікросателітні маркери (SSR – Simple Sequence Repeats), оскільки вони є кодомінантними та високополіморфними [12].

Мета досліджень – класифікація вихідного матеріалу кукурудзи за ступенем холодостійкості, ідентифікація самозапилених ліній кукурудзи в лабораторних і польових умовах за холодостійкістю та основними господарсько-цінними показниками та їхнє генотипування за допомогою SSR маркерів.

Матеріали та методика досліджень

Матеріалом для дослідження слугували колекційні зразки кукурудзи вітчизняної та зарубіжної селекції, які були отримані з Всеросійського інституту рослинництва імені М. І. Вавилова (м. Санкт-Петербург, Російська Федерація), Національного центру генетичних ресурсів рослин України (м. Харків, Україна), кафедри селекції та насінництва Національного університету біоресурсів і природокористування України (НУБіП України), ННЦ «Інституту землеробства НААН України» та ТОВ «Расава».

Лабораторне визначення холодостійкості проводили згідно методики Кіяшко Н. І. [5]. Польові дослідження проводили згідно Методичних рекомендацій польового та лабораторного вивчення генетичних ресурсів кукурудзи [13] протягом 2009–2011 рр. на полях лабораторії селекції кафедри генетики, селекції і насінництва ім. проф. М. О. Зеленсь-

кого виробничого підрозділу «Агрономічна дослідна станція» НУБіП України, яка розташована в с. Пшеничне Васильківського району Київської області.

У польових умовах з метою визначення холодостійкості було проведено сівбу за різних температур ґрунту на глибині загортання насіння (5–6 см). Сівбу (перший строк) проводили за температури ґрунту 6,0–6,5 °С, другий – 8,0–8,5 °С та третій – 10,0–10,5 °С. Контролем слугував третій строк сівби. Ґрунт дослідної ділянки – чорнозем типовий, малогумусний, крупнопилувато-середньосуглинковий за гранулометричним складом [14]. Погодні умови років досліджень були сприятливими для вирощування кукурудзи на зерно.

Вивчення колекційних зразків кукурудзи в польових умовах проводили в чотирьохразовій повторності при рендомізованому розміщенні ділянок. Облікова площа ділянок становила для самозапилених ліній – 4,9 м², для гібридів – 9,8 м². Фенологічні спостереження, біометричні виміри, обліки стійкості проти шкідників і хвороб, аналіз показників структури врожаю та врожайності виконували відповідно до загальноприйнятих методик [5–7, 15–17]. Вологість зерна при збиранні вимірювали вологоміром Wile 55.

Молекулярно-генетичний аналіз

Інбредні лінії кукурудзи, які були відібрані за ознакою холодостійкості з 2011 року були залучені в селекційний процес, який включав перевірку комбінаційної здатності та розмноження ліній. Для визначення найбільш генетично віддалених форм проводили аналіз інбредних ліній за SSR маркерами. Дослідження проводили на базі лабораторії молекулярно-генетичного аналізу Українського інституту експертизи сортів рослин протягом 2019 р. Для виділення ДНК використовували по 5 п'ятиденних проростків кожної лінії. Насіння пророщували відповідно до вимог ДСТУ 4138-2002 «Насіння сільськогосподарських культур. Методи визначення якості». ДНК екстрагували з 5-денних проростків кукурудзи з використанням СТАБ. Отриману сумарну ДНК розчиняли в ТЕ буфері [18]. Кількість та якість ДНК оцінювали за допомогою спектрофотометра Biophotometr (Eppendorf, Germany). Вивчення молекулярно-генетичного поліморфізму проводили за п'ятьма SSR маркерами відповідно ISO/TR 17623:2015 Molecular biomarker analysis – SSR analysis of maize [19]. Маркери, які застосовували для аналізу досліджуваних ліній кукурудзи мали високе значення індексу поліморфності локуса (PIC), який

розрахований для ліній кукурудзи, вказаних у ISO/TR 17623:2015. Нуклеотидні послі-

довності праймерів та їхні характеристики представлені в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1

Нуклеотидні послідовності праймерів

SSR	Прямий праймер 5'→3'	Зворотній праймер 5'→3'
phi064	CCGAATTGAAATAGCTGCGAGAACCT	ACAATGAACGGTGGTTATCAACACGC
umc1448	ATCCTCTCATCTTTAGGTCCACCG	CATATACAGTCTTCTGGCTGCTCA
umc1792	CATGGGACAGCAAGAGACACAG	ACCTTCATCACCTGCAACTACGAC
bnlg1782	CGATGCTCCGCTAGGAATAG	TGTGTTGGAAATTGACCCAA
bnlg1129	GAGAGTATGCTACTCGCCGC	GACGAGTTGGAGTGCCATT

Таблиця 2

Характеристики досліджуваних SSR маркерів

SSR	Бін/Хромосома	Мотив	Очікуваний розмір ампліконів, п.н.
phi064	1,11	(ATCC) _n	75–110
umc1448	2,04	(GCT) ₅	137–161
umc1792	5,08	CGG(5)	115–134
bnlg1782	8,05	AG(13)	219–236
bnlg1129	9,08	AG(12)	179–202

ПЛР проводили на ампліфікаторі T-CY (Creacon Technologies B.V., The Netherlands). Реакційна суміш об'ємом 10 мкл містила: 50 нг ДНК, однократний (1×) буфер (10 mM Tris-HCl, pH 9,0; 50 mM KCl; 0,01% Triton X-100), 3 mM MgCl₂; 125 мкМ дезоксинуклеотидтрифосфатів (дНТФ), 0,25 мкМ кожного з праймерів та 0,25 одиниць Taq полімерази. Тип ПЛР – TouchDown. Для праймерів phi064, umc1448, bnlg1782 та bnlg1129 застосовувались наступні умови: початкова денатурація 94 °C – 10 хв, денатурація 94 °C – 30 с, гібридизація праймерів 64–55 °C – 30 с, елонгація 72 °C – 30 с, кінцева елонгація – 72 °C – 10 хв. Температуру гібридизації праймерів знижували від 64 до 55 °C по 1 °C за 1 цикл (10 циклів), кількість циклів за температури 55 °C – 30. Для праймера umc1792 умови TouchDown ПЛР були такими: початкова денатурація 10 хв при 94 °C, денатурація при 94 °C – 30 с, гібридизація праймерів за температури від 62 до 53 °C – 30 с, елонгація при 72 °C – 30 с, кінцева елонгація – 10 хв при 72 °C. Температуру гібридизації праймерів знижували від 62 до 53 °C з кроком у 2 °C по 2 цикли (10 циклів), кількість циклів за температури 53 °C – 30.

Продукти ампліфікації аналізували методом електрофорезу в 2% агарозному гелі у 0,5×ТБЕ (трис-боратний буферний розчин) з бромистим етидієм [20]. Електрофорез проводили протягом 1,5 годин за напруженості електричного поля 5 В/см.

Відповідно до отриманих розмірів алелів розраховували PIC (polymorphism information content) [21] та будували матрицю, у якій

присутність/відсутність певного амплікону позначали 1/0 відповідно. Для аналізу результатів досліджень застосовували метод ієрархічної кластеризації з Евклідовою мірою відстані за допомогою комп'ютерної програми Statistica 12.0 (тестова версія, яка не потребує ліцензії). Групування досліджених генотипів у кластери проводили за допомогою Statistica 6.0 [22, 23].

Результати досліджень

На основі аналізу джерел наукової літератури встановлено, що найбільш ефективною для визначення холодостійкості є методика, запропонована Кіяшко Н. І. (*cold test*) [6], яка дозволяє в короткі терміни ідентифікувати холодостійкі генотипи. Добір холодостійких зразків, у першу чергу, ґрунтується на визначенні схожості за умов пророщування при низьких температурах у лабораторних умовах. Для визначення і добору холодостійких зразків за результатами *cold test* запропоновано модифіковану класифікацію, яка дозволяє провести розподіл зразків на групи за рівнем холодостійкості (табл. 3).

Таблиця 3

Розподіл досліджуваних зразків кукурудзи на групи за холодостійкістю, шт.

Потенційна схожість, % (20 діб пророщування при 10 °C)	Залишкова схожість, % (3 дні дорощування при 25 °C)		
	≥ 95	≥ 70–94	< 69
(9 балів) 95–100	24	1	0
(7 балів) 70–94	12	17	0
(5 балів) < 69	6	23	8

Серед 91 проаналізованої лінії до кременистого підвиду належать 15, кременисто-зубовидного – 66 і зубовидного – 10 ліній. До I групи холодостійкості з усіх проаналізованих належать: кременисті – 20,0% (3 лінії); кременисто-зубовидні – 27,2% (18 ліній); зубовидні – 30,0% (3 лінії). Визначено, що холодостійкість залежить від генотипу, а не типу зерна. Тому, під час ведення селекції

кукурудзи на холодостійкість доцільно вести добір серед усіх підвидів.

Встановлено, що найкращою регенеративною здатністю та найвищою схожістю за холодного пророщування насіння та її збереження відносно контролю (варіювання в межах 96,4–100,0%) володіють самозапилени лінії: HLG 1203, HLG 1238, Co 255, UCH 37 та FV 243, Q170, AK 135, F2, L155 та P165, з якими продовжилась робота в польових умовах.

Оцінка холодостійкості самозапилених ліній кукурудзи в польових умовах. Польова схожість самозапилених ліній за опти-

мального строку сівби в середньому за два роки варіювала в межах від 51,1 до 90,0% (рис. 1). За 1-го раннього строку сівби вона в більшості ліній знижувалась і варіювала в межах 32,1–87,8%. За другого строку сівби варіювала в межах 41,8–88,5%.

Найвищу схожість за роки досліджень відмічено за першого строку сівби в лінії: Co 255 – 87,8–88,5%, HLG 1203 – 73,0–76,3%, HLG 1238 – 77,2–75,3% та Q 170 – 75,0–86,6%. Ці ж лінії характеризуються і найвищим показником відсотка збереження схожості в порівнянні з контролем (третій строк сівби) – 86,0–103,0%.

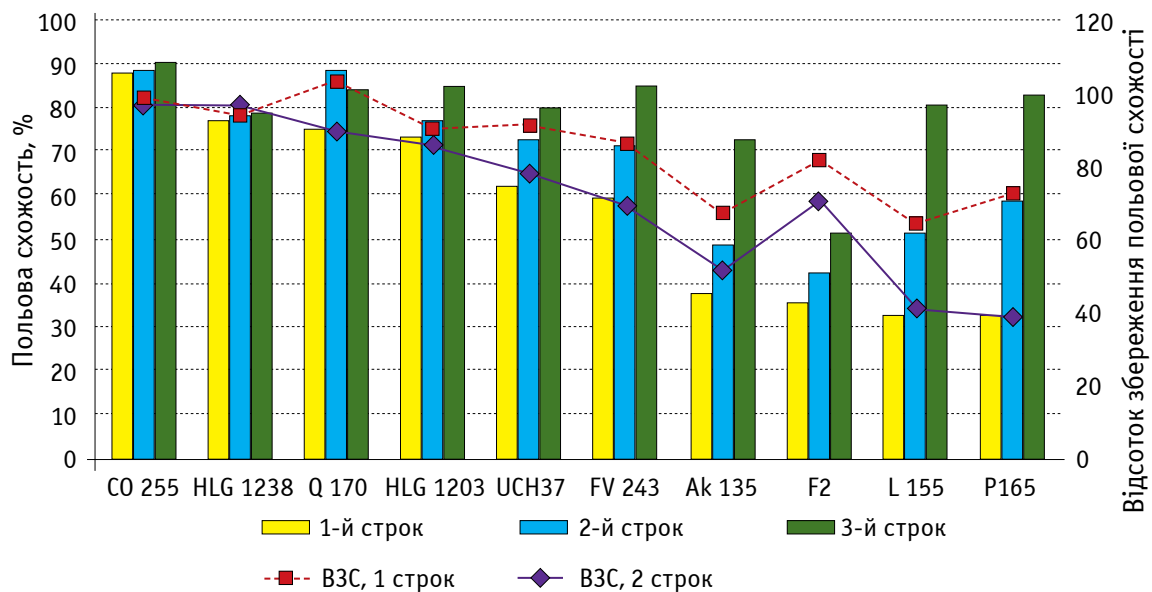


Рис. 1. Польова схожість та ВЗС кращих самозапилених ліній кукурудзи (2010–2011 рр.)

Урожайність та вологість зерна самозапилених ліній кукурудзи. Під час аналізу врожайності кожної окремої інбредної лінії встановлено, що генотипи за цим показником по різному реагують на строк сівби. Зокрема, лінія FV 243 в середньому за два роки за першого строку сівби сформувала найвищу врожайність – 3,7 т/га у порівнянні з другим – 3,6 т/га та третім – 3,1 т/га. Лінії HLG 1238 та UCH 37 сформували однакову врожайність за трьох строків сівби – 2,8–2,9 та 1,7–2,0 т/га, відповідно. Урожайність самозапилених ліній кукурудзи за оптимального та ранніх строків сівби наведено в таблиці 4. За першого та другого строку сівби лінії сформували наступну урожайність: FV 243 – 3,7 т/га; Co 255 – 3,4 т/га та HLG 1238 – 2,9 т/га. Дані лінії мають найвищу потенційну холодостійкість.

За першого строку сівби середня вологість для всіх ліній за роки випробування становила 18,2%, другого – 17,1% і третього –

17,7%. Холодостійкі лінії мали дещо вищу вологість зерна за ранніх строків сівби. Так лінія HLG 1203 за першого строку сівби мала вологість 18,8%, тоді як за третього – 16,6%. Таку ж тенденцію відмічено в ліній HLG 1238, FV 243, UCH 37.

За результатами лабораторних і польових досліджень було виділено 13 самозапильних ліній, стійких до знижених температур.

Лінія Co225. Походження – Канада. Середньорання група стиглості. Висота рослин 200–210 см, продуктивність зерна з рослини 90–95 г. Холодостійкість лабораторна – 9 балів (схожість 95–100% при температурі 10 °C).

Лінія HLG 1203. Походження – Україна. Рання група стиглості. Висота рослин 150–160 см, продуктивність зерна з рослини 110–115 г. Холодостійкість лабораторна – 9 балів.

Лінія HLG 1238. Походження – Україна. Рання група стиглості. Висота рослин 140–150 см, продуктивність зерна з рослини 80–95 г. Холодостійкість лабораторна – 9 балів.

Таблиця 4

Урожайність холодостійких самозапилених ліній кукурудзи, т/га

Назва лінії	Строк сівби								
	Перший (6–6,5 °С)			Другий (8–8,5 °С)			Третій (10–10,5 °С)		
	2010	2011	середнє	2010	2011	середнє	2010	2011	середнє
HLG 1203	2,1	3,0	2,6	2,8	2,8	2,8	2,9	2,8	2,9
HLG 1238	2,9	3,0	2,9	2,8	3,0	2,9	2,7	3,1	2,9
FV 243	3,5	3,9	3,7	3,1	4,1	3,6	2,6	3,6	3,1
Q 170	2,2	3,3	2,8	2,0	4,3	3,1	2,7	3,9	3,3
Co 255	3,0	3,9	3,4	2,7	4,6	3,7	3,5	4,1	3,8
UCH 37	1,2	2,8	2,0	1,5	2,0	1,7	1,5	2,2	1,9
Ak 135	1,9	1,9	1,9	1,7	1,9	1,8	2,7	2,4	2,5
F 2	1,1	1,8	1,4	1,2	2,5	1,9	1,6	3,4	2,5
P165	0,8	2,9	1,9	1,0	2,5	1,7	1,7	3,5	2,6
L 155	0,5	1,7	1,1	0,5	2,3	1,4	0,8	3,8	2,3
HIP _{0,05}	0,24	0,35	–	0,21	0,34	–	0,30	0,37	–

Лінія UCH 37. Походження – Україна. Середньорання група стиглості. Висота рослин 160–170 см, продуктивність зерна з рослини 70–80 г. Холодостійкість лабораторна – 9 балів.

Лінія Ak 135. Походження – Україна. Середньорання група стиглості. Висота рослин 150–160 см, продуктивність зерна з рослини 90–100 г. Холодостійкість лабораторна – 9 балів.

Лінія Ak 149. Походження – Україна. Рання група стиглості. Висота рослин 170–185 см, продуктивність зерна з рослини 45–51 г. Холодостійкість лабораторна – 7 балів.

Лінія Ak 151. Походження – Україна. Середньорання група стиглості. Висота рослин 170–190 см, продуктивність зерна з рослини 43–55 г. Холодостійкість лабораторна – 9 балів.

Лінія Ak 153. Походження – Україна. Рання група стиглості. Висота рослин 170–180 см, продуктивність зерна з рослини 50–65 г. Холодостійкість лабораторна – 7 балів (схожість 70–94% при 10 °С).

Лінія Ak 155. Походження – Україна. Середньорання група стиглості. Висота рослин 170–180 см, продуктивність зерна з рослини 95–105 г. Холодостійкість лабораторна – 7 балів.

Лінія Ak 157. Походження – Україна. Середньорання група стиглості. Висота рослин – 170–180 см, продуктивність зерна з рослини – 95–100 г. Холодостійкість лабораторна – 9 балів.

Лінія Ak 159. Походження – Україна. Середньорання група стиглості. Висота рослин 180–185 см, продуктивність зерна з рослини 94–100 г. Холодостійкість лабораторна – 7 балів.

Лінія Q 170. Походження – Канада. Рання група стиглості. Висота рослин 155–160 см, продуктивність зерна з рослини 75–85 г. Холодостійкість лабораторна – 9 балів.

Лінія FV 243. Походження – Росія. Середньорання група стиглості. Висота рослин 175–

185 см, продуктивність зерна з рослини 99–105 г. Холодостійкість лабораторна – 9 балів.

Молекулярно-генетичний аналіз холодостійких ліній кукурудзи. Різноманітність комерційних сортів і селекційних форм різного походження, що використовуються при гібридизації, потребують попереднього аналізу і класифікації за рівнем генетичної близькості [8, 9, 11, 24].

З цією метою було проведено SSR аналіз 13 відібраних ліній кукурудзи. Концентрація отриманої ДНК становила 210–355 мкг/мл, чистота – 1,7–1,9. У результаті ПЛП ідентифіковано від 3 до 7 алелів (табл. 5).

Встановлено, що найбільш поліморфним виявився маркер phi064, значення PIC становило 0,86. Визначено, що за даним маркером ідентифіковано найбільшу кількість алелів, які рівномірно представлені у вибірці. Найменш поліморфним для досліджуваних ліній є маркер umc1792, на що вказує низьке значення PIC та нерівномірність частот виявлених алелів. За іншими маркерами значення PIC становило від 0,66 до 0,75. Частоти ідентифікованих алелів варіювали від 0,04 до 0,46. Визначено, що алель розміром 120 п.н. представлений тільки в лінії Ak 159, яка за цим маркером також має ще один алель розміром 88 п.н. з частотою 0,19. Найбільшу частоту має алель розміром 174 п.н., який ідентифікований за маркером umc1448 у 6 досліджуваних ліній.

Варто відмітити, що за маркерами bnlgl129, bnlgl1782 та phi064 в досліджуваних ліній було виявлено внутрішньолінійний поліморфізм.

За маркером bnlgl129 по два алелі ідентифіковано в ліній HLG 1203, HLG 1238, FV 243 та Ak 155, за маркером bnlgl1782 в ліній FV 243 та Q 170, за маркером phi064 – Ak 151, Ak 155 та Ak 159. Отже, найбільш гетероген-

Таблиця 5

Алелі, ідентифіковані в самозапильних ліній кукурудзи за SSR маркерами

SSR	Кількість алелів, шт.	Розмір алелів, п.н.	Частоти алелів	PIC
phi064	7	76; 80; 88; 96; 112; 120; 124	0,08; 0,15; 0,19; 0,23; 0,15; 0,04; 0,15	0,86
umc1448	4	159; 165; 174; 189	0,15; 0,31; 0,46; 0,08	0,66
umc1792	3	123; 129; 135	0,38; 0,54; 0,08	0,56
bnlg1782	4	228; 240; 250; 288	0,08; 0,46; 0,23; 0,23	0,67
bnlg1129	5	188; 194; 210; 228; 240	0,08; 0,23; 0,38; 0,15; 0,15	0,75

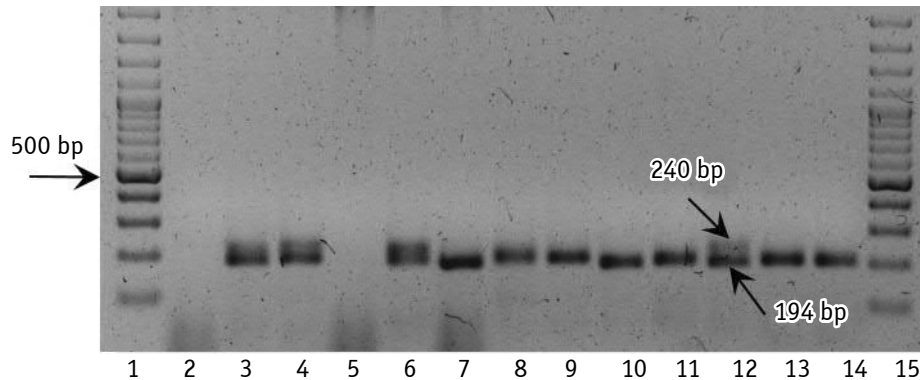


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК ліній кукурудзи за маркером **bnlg1129**: 1–15 – маркер молекулярної маси 100 bp DNA Ladder O'GeneRuler (Thermo Scientific); 3–4 – лінії HLG 1203 та HLG 1238; 6–7 – FV 243, Q 170, Ak 135, Ak 149, Ak 151, Ak 153, Ak 155, Ak 157, Ak 159

ними за досліджуваними маркерами виявились лінії FV 243 та Ak 155, які продемонстрували внутрішньо лінійний поліморфізм за двома з п'яти досліджуваних маркерів. Під час дослідження поліморфізму ліній кукурудзи за 30 SSR маркерами Gurung et al. [24] встановлено, що найбільш поліморфним виявився маркер phi064, значення PIC становило 0,83. За результатами Choukan et al. [25], якими досліджено 58 інбредних ліній кукурудзи за 46 SSR маркерами, значення PIC за цим маркером становило 0,67. Дослідження Jompuk et al. [26] показали застосування маркера bnlg1782 в ролі функціонального. Kumar et al. [27] досліджували генетичне різноманіття 16 ліній кукурудзи за 24 маркерами. Авторами визначено, що за маркером umc1792, який продемонстрував найнижчий рівень поліморфізму, ідентифіковано 3 алеля, PIC 0,60. Це також знайшло підтвердження в нашій роботі: за цим маркером було визначено також 3 алеля. Дослідженнями авторів Laborda et al.; Liu et al.; Wang et al.; Zhao et al. [28–31] також підтверджено ефективність застосування SSR маркерів для оцінки генетичного різноманіття кукурудзи та пошуку пов'язаних з ними господарсько-цінних ознак.

Для 13 самозапильних ліній кукурудзи з метою визначення взаємозв'язків за SSR маркерами проводили кластерний аналіз.

Результати кластеризації у вигляді філогенетичного дерева представлені на рисунку 3.

У результаті аналізу отримано чотири кластера, які сформовано лініями кукурудзи, відповідно до їхньої генетичної близькості за досліджуваними SSR маркерами. Визначено, що найбільш спорідненими лініями, які увійшли в один кластер є лінії Ak 135 та Ak 153, а найбільш віддаленими – Co225 та Q 170. Інші два кластера сформовано лініями Ak 157 та Ak 159, HLG 1203 та HLG 1238. Відмічено, що лінії Ak 151, Ak 149, Ak 155, UCH 37 та FV 243 не увійшли до жодного кластера, а знаходились у прилеглих до визначених кластерів позиціях. Згідно з отриманими даними, досліджувані лінії кукурудзи сформували кластери відповідно до їхнього походження. Так, до одного кластера увійшли лінії канадського походження, а єдина лінія російського походження FV 243 знаходилась окремо від інших кластерів. Лінії Ak 135 та Ak 153, Ak 157 та Ak 159, які були отримані НУБіП України, також сформували по одному кластеру. Слід зауважити, що лінії HLG 1203 та HLG 1238, які сформували один кластер, належать до однієї групи стиглості – ранньої, а лінії Ak 157 та Ak 159 – до середньоранньої. Відповідно до балової оцінки холодостійкості самозапильних ліній визначено, що до одного кластера увійшли також лінії з оцінкою 9: Co225 та Q 170, HLG 1203 та HLG 1238.

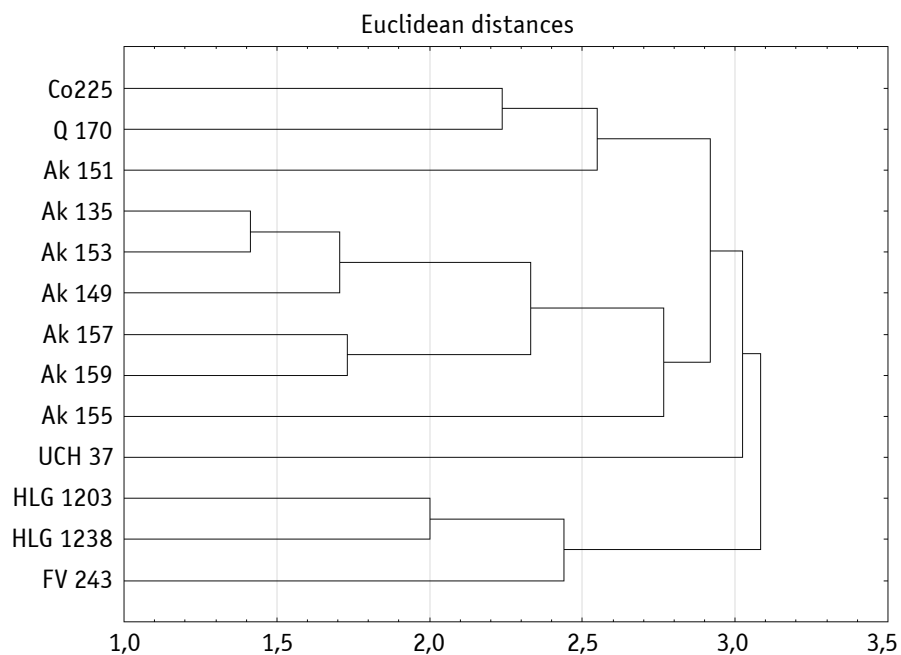


Рис. 3. Кластерний розподіл самоzapильних ліній кукурудзи за SSR маркерами

Таким чином, встановлено, що ступінь генетичної близькості досліджуваних самоzapильних ліній кукурудзи відображається відповідно до їхнього походження. Найбільш близькими виявились лінії, які належать одній установі або мають спільну країну походження.

Висновки

На підставі вивчення вихідного матеріалу кукурудзи виділено 7 самоzapильних ліній (Co 255, HLG 1203, HLG 1238, Q 170, UCH 37, Ak 135, FV 243), які можуть бути цінними джерелами холодостійкості. Лінії передано до Національного центру генетичних ресурсів рослин України для ідентифікації та занесення до Національного каталогу.

Визначено молекулярно-генетичні характеристики самоzapильних ліній за SSR маркерами. Встановлено ступінь генетичної близькості 13 самоzapильних ліній за мікросателітними маркерами.

Використана література

1. Посівні площі сільськогосподарських культур за їх видами по регіонах у 2018 році. URL: <http://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2018/sg/ppsgk/ppsgk2018.xls>
2. Красновский С. А., Жемойда В. Л. Отбор холодостойких генотипов кукурузы методом холодного проращивания (*cold test*). *Земледелие и селекция в Беларуси*. 2016. Вып. 52. С. 274–280.
3. Черчель В. Ю. Селекція скоростиглих гібридів кукурудзи, адаптованих до умов різних природно-кліматичних зон України : автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук : спец. 06.01.05 – селекція і насінництво / Ін-т рослинництва ім. В. Я. Юр'єва. Харків, 2018. 67 с.
4. Zhemojda V. L., Krasnovsky S. A., Karpuk L. M., Makarchuk O. S. The algorithm selection of initial material corn by breeding for cold resistance and model of inbred line. *Eurasia J. Biosci.* 2019. Vol. 13, Iss. 1. P. 431–436.
5. Кияшко Н. И. Физиологические особенности холодоустойчивости линий и гибридов кукурузы (*Zea mays* L.) : дис. ... канд. биол. наук : спец. 03.00.12 – физиология растений / ВНИИ растениеводства. Санкт-Петербург, 1992. 224 с.
6. Филипов Г. Л., Вишнеvский М. В. Диагностика и отбор инбредных линий кукурузы на термоустойчивость по физиологическим признакам. *Сельскохозяйственная биология*. 1987. № 5. С. 61–64.
7. Филипов Г. Л., Вишнеvский М. В., Губенко В. А., Максимова Л. А. Методика диагностики селекционного материала для отбора на адаптивную устойчивость (засухо-, жаро-, холодоустойчивость, устойчивость к загущению). Днепропетровск, 1989. 19 с.
8. Созинов А. А. Теоретические основы использования молекулярно-генетических маркеров в селекции растений. *Агроэкология и биотехнология*. Київ, 1996. С. 141–170.
9. Сиволап Ю. М., Календарь Р. Н., Чеботарь С. В. Генетический полиморфизм растений, детектируемый ПЦР с произвольными праймерами. *Цитология и генетика*. 1994. Т. 28, № 6. С. 113–129.
10. Присяжнюк Л. М., Сатарова Т. М., Ткачик С. О. та ін. Аналіз електрофоретичних спектрів зеїнів для оцінки генетичного різноманіття ліній кукурудзи (*Zea mays* (L.) Merr.). *Plant Var. Stud. Prot.* 2018. Т. 14, № 1. С. 89–96. doi: 10.21498/2518-1017.14.1.2018.126517
11. Сиволап Ю. М., Кожухова К. О. ДНК-технології в реєстрації та охороні прав на сорти рослин. *Plant Var. Stud. Prot.* 2005. № 1. С. 66–74. doi: 10.21498/2518-1017.1.2005.66849
12. Drinić S. M., Kostadinović M., Ristić D. et al. Correlation of yield and heterosis of maize hybrids and their parental lines with genetic distance based on SSR markers. *Genetika*. 2012. Vol. 44, Iss. 2. P. 399–408. doi: 10.2298/GENSR1202399D
13. Гур'єва І. А., Рябчун В. К., Літун П. П. та ін. Методичні рекомендації польового та лабораторного вивчення генетичних ресурсів кукурудзи. Харків, 2003. 43 с.
14. Дубровіна Н. Я., Аксьом О. М. Ґрунти агрономічної дослідної станції «Митниця» Васильківського району Київської області. *Наукові праці Укр. с.-г. академії : Біологія і агротехніка по-*

льових культур в Поліссі і Лісостепу УРСР. Київ, 1974. Вип. 123. С. 3–17.

15. Кириченко В. В., Гур'єва І. А., Рябчун В. К. та ін. Класифікатор-довідник виду *Zea mays* L. Харків, 2009. 82 с.
16. Доспехов Б. А. Методика полевого опыта (с основами статистической обработки результатов исследований). 5-е изд., доп. и перераб. Москва : Агропромиздат, 1985. 351 с.
17. Методика проведення експертизи сортів рослин групи зернових, круп'яних та зернобобових на придатність до поширення в Україні / за ред. С. О. Ткачик. Вінниця : ФОРМ Корзун Д. Ю., 2016. 82 с.
18. Prysiazhniuk L., Shytikova Y., Dikhtiar I., Mizerna N. Evaluation of genetic and morphological distances between soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2019. Vol. 106, Iss. 2. P. 117–122. doi: 10.13080/z-a.2019.106.015
19. Molecular biomarker analysis – SSR analysis of maize (E) : ISO/TR 17623:2015. Geneva, 2015. 10 p.
20. Методика проведення кваліфікаційної експертизи сортів рослин на придатність до поширення в Україні. Методи визначення показників якості продукції рослинництва / за ред. С. О. Ткачик. Вінниця : Нілан-ЛТД, 2015. 160 с.
21. Сиволап Ю. М., Календарь Р. Н., Вербицкая Т. Г. и др. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях. Киев : Аграрная наука, 1998. 156 с.
22. Дроздов В. И. Инструкция по использованию пакета Statistica 6.0. Курск : Изд-во ЮЗГУ, 2010. 74 с.
23. Ермантраут Е. Р., Присяжнюк О. І., Шевченко І. Л. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних в пакеті Statistica 6.0. Київ : ПоліграфКонсалтинг, 2007. 55 с.
24. Gurung D., George M., Dela Cruz Q. Analysis of genetic diversity within Nepalese maize populations using SSR markers. *Nepal J. Sci. Technol.* 2010. Vol. 11. P. 1–8. doi: 10.3126/njst.v11i0.4082
25. Choukan R., Hossainzadeh A., Ghannadha M. R. et al. Use of SSR data to determine relationships and potential heterotic groupings within medium to late maturing Iranian maize inbred lines. *Field Crop. Res.* 2006. Vol. 95, Iss. 2–3. P. 212–222. doi: 10.1016/j.fcr.2005.02.011
26. Jompuk C., Fracheboud Y., Stamp P., Leipner J. Mapping of quantitative trait loci associated with chilling tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings grown under field conditions. *J. Exp. Bot.* 2005. Vol. 56, Iss. 414. P. 1153–1163. doi: 10.1093/jxb/eri108
27. Kumar B., Rakshit S., Singh R. D. et al. Genetic Diversity of Early Maturing Indian Maize (*Zea mays* L.) Inbred Lines Revealed by SSR Markers. *J. Plant Biochem. Biotechnol.* 2008. Vol. 17, Iss. 2. P. 133–140. doi: 10.1007/BF03263274
28. Laborda P. R., Oliveira K. M., Garcia A. A. F. et al. Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? *Theor. Appl. Genet.* 2005. Vol. 111, Iss. 7. P. 1288–1299. doi: 10.1007/s00122-005-0055-7
29. Liu X., Zhang Y., Zheng Z. et al. QTL Mapping for Controlling Days to Pollen Shed under Different Nitrogen Regimes in Maize. *Proc. of 4th Int. Conf. on Bioinformatics and Biomedical Engineering* (Chengdu, June 18–20, 2010). Chengdu, China : IEEE, 2010. P. 1–4. doi: 10.1109/icbbe.2010.5518247
30. Wang A. Y., Li Y., Zhang C. Q. QTL mapping for stay-green in maize (*Zea mays*). *Can. J. Plant Sci.* 2012. Vol. 92, Iss. 2. P. 249–256. doi: 10.4141/cjps2011-108
31. Zhao Y., Zhang Y., Wang, L. et al. Mapping and functional analysis of a maize silkless mutant *sk-A7110*. *Front. Plant Sci.* 2018. Iss. 9. P. 1227. doi: 10.3389/fpls.2018.01227
3. Cherchel, V. Yu. (2018). *Selektsiia skorostyhykh hibrydiv kukurudzy, adaptovanykh do umov riznykh pryrodno-klimatychnykh zon Ukrainy* [Breeding of early maturing corn hybrids adapted to the conditions of different natural and climatic zones of Ukraine] (Extended Abstract of Dr. Agric. Sci. Diss.). Plant Production Institute nd. a. V. Ya. Yuriev of NAAS, Kharkiv, Ukraine. [in Ukrainian]
4. Zhemoida, V. L., Krasnovsky, S. A., Karpuk, L. M., & Makarchuk, O. S. (2019). The algorithm selection of initial material corn by breeding for cold resistance and model of inbred line. *Eurasia J. Biosci.*, 13(1), 431–436.
5. Kiyashko, N. I. (1992). *Fiziologicheskie osobennosti kholodoustoychivosti liniy i gibrydov kukuruzy (Zea mays L.)* [Physiological features of cold resistance of maize lines and hybrids (*Zea mays* L.)] (Cand. Biol. Sci. Diss). All-Russia Research Institute of Plant Industry, St. Petersburg, Russia. [in Russian]
6. Filipov, G. L., & Vishnevskiy, M. V. (1987). Diagnosis and selection of inbred lines of corn for heat resistance according to physiological characteristics. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 5, 61–64. [in Russian]
7. Filipov, G. L., Vishnevskiy, M. V., Gubenko, V. A., & Maksimova, L. A. (1989). *Metodika diagnostiki selektsionnogo materiala dlya otbora na adaptivnuyu ustoychivost (zasukho-, zhoro-, kholodoustoychivost', ustoychivost' k zagushcheniyu)* [Method for the diagnosis of breeding material for selection on adaptive stability (drought, heat, cold resistance, resistance to thickening)]. Dnipropetrovsk: N.p. [in Russian]
8. Sozinov, A. A. (1996). The theoretical basis for the use of molecular genetic markers in plant breeding. In *Ahroekolohiia i biotekhnolohiia* [Agroecology and Biotechnology] (pp. 141–170). Kyiv: N.p. [in Russian]
9. Sivolap, Yu. M., Kalendar, R. N., & Chebotar, S. V. (1994). Genetic plant polymorphism detected by PCR with arbitrary primers. *TSitol. Genet.* [Cytol. Genet.], 28(6), 113–129. [in Russian]
10. Prysiazhniuk, L. M., Satarova, T. M., Tkachyk, S. O., Shytikova, Yu. V., Dziubetskyi, B. V., & Cherchel, V. Yu. (2018). Analysis of electrophoretic spectra of zeins for the evaluation of the genetic diversity of maize lines (*Zea mays* (L.) Merr.). *Plant Var. Stud. Prot.*, 14(1), 89–96. doi: 10.21498/2518-1017.14.1.2018.126517. [in Ukrainian]
11. Syvolap, Y., & Kozhukhova, N. (2005). DNA Techniques in the register and protection of plant varieties rights. *Plant Var. Stud. Prot.*, 1, 66–74. doi: 10.21498/2518-1017.1.2005.66849. [in Ukrainian]
12. Drinić, S. M., Kostadinović, M., Ristić, D., Stevanović, M., Čamdžija, Z., Filipović, M., & Kovačević, D. (2012). Correlation of yield and heterosis of maize hybrids and their parental lines with genetic distance based on SSR markers. *Genetika*, 44(2), 399–408. doi: 10.2298/GENSER1202399D
13. Hurieva, I. A., Riabchun, V. K., Litun, P. P., Kuzmyshyna, N. V., Vakulenko, C. M., Kolomatska, V. P., & Belkin, O. O. (2003). *Metodychni rekomendatsii polovoho ta laboratornoho vyvchenia henetychnykh resursiv kukurudzy* [Methodical guidelines for field and laboratory study of maize genetic resources]. Kharkiv: N.p. [in Ukrainian]
14. Dubrovina, N. Ya., & Aksom, O. M. (1974). Soils of agronomic research station "Customs" of Vasytkiv district in Kyiv region. *Naukovi pratsi Ukrainskoi silskohospodarskoi akademii: Biolohiia i ahrotekhnika polovykh kultur v Polissi i Lisostepu URSR* [Scientific works of Ukr. Agricultural Academy: Biology and Agrotechnics of Field Crops in Polissia and Forest-Steppe of the USSR], 123, 3–17. [in Ukrainian]
15. Kyrychenko, B. B., Hurieva, I. A., Riabchun, V. K., Kuzmyshyna, N. V., Vakulenko, C. M., & Stepanova, V. P. (2009). *Klasyfikator-dovidnyk vydu Zea mays L.* [Classical reference book for *Zea mays* L. species]. Kharkiv: N.p. [in Ukrainian]
16. Dospikhov, B. A. (1985). *Metodika polevogo opyta (s osnovami statisticheskoy obrabotki rezul'tatov issledovaniy)* [Methods of field experiment (with the basics of statistical processing of

References

1. *Posivni ploshchi silskohospodarskykh kultur za yikh vydamy po rehionakh u 2018 rotsi* [Crop areas by species by region in 2018]. (2018). Retrieved from <http://www.ukrstat.gov.ua/operativ/operativ2018/sg/ppsgk/ppsgk2018.xls>
2. Krasnovsky, S. A., & Zhemoida, V. L. (2016). Selection of cold tolerant highly productive corn genotypes using cold test method. *Zemledelie i selektsiya v Belarusi* [Agriculture and Breeding in Belarus], 52, 274–280. [in Russian]

- research results)]. (5th ed., rev.). Moscow: Agropromizdat. [in Russian]
17. Tkachik, S. O. (Ed.). (2016). *Metodyka provedennia ekspertyzy sortiv roslyn hrupy zernovykh, krupianykh ta zernobobovykh na prydatnist do poshyrennia v Ukraini* [Methods of examination of plant varieties of cereals, cereals and legumes for suitability for distribution in Ukraine]. Vinnytsia: FOP Korzun D. Yu. [in Ukrainian]
 18. Prysiazhniuk, L., Shytikova, Y., Dikhtiar, I., & Mizerna, N. (2019). Evaluation of genetic and morphological distances between soybean (*Glycine max* L.) cultivars. *Zemdirbyste-Agriculture*, 106(2), 117–122. doi: 10.13080/z-a.2019.106.015
 19. *Molecular biomarker analysis – SSR analysis of maize (E): ISO/TR 17623:2015*. (2015). Geneva.
 20. Tkachyk, S. O. (Ed.). (2015). *Metodyka provedennia kvalifikatsiinoi ekspertyzy sortiv roslyn na prydatnist do poshyrennia v Ukraini. Metody vyznachennia pokaznykiv yakosti produktsii roslynnytstva* [Regulations on the procedure and the conduct of qualification tests for suitability of crop varieties for dissemination in Ukraine. Methods of determining quality indices of crop products]. Vinnytsia: Nilan-LTD. [in Ukrainian]
 21. Sivolap, Yu. M., Kalendar, R. N., Verbitskaya, T. G., Brik, A. F., Kozhukhova, N. E., Solodenko, A. E., ... Topchieva, E. A. (1998). *Ispolzovanie PCR-analiza v genetiko-seleksionnykh issledovaniyakh* [The use of PCR analysis in genetic breeding studies]. Kyiv: Ahrarna nauka. [in Russian]
 22. Drozdov, V. I. (2010). *Instruktsiya po ispolzovaniyu paketa Statistika 6.0* [Manual for using the Statistika 6.0]. Kursk: Izdatel'stvo YuZGU. [in Russian]
 23. Ermantraut, E. R., Prysiazhniuk, O. I., & Shevchenko, I. L. (2007). *Statystychnyi analiz ahronomichnykh doslidnykh danykh v paketi Statistika 6.0* [Statistical analysis of agronomic study data in the software suite Statistika 6.0]. Kyiv: PolihrafKonsal'tynh. [in Ukrainian]
 24. Gurung, D., George, M., & Dela Cruz, Q. (2010). Analysis of genetic diversity within Nepalese maize populations using SSR markers. *Nepal J. Sci. Technol.*, 11, 1–8. doi: 10.3126/njst.v11i0.4082
 25. Choukan, R., Hossainzadeh, A., Ghannadha, M. R., Warburton, M. L., Taleib, A. R., & Mohammadid, S. A. (2006). Use of SSR data to determine relationships and potential heterotic groupings within medium to late maturing Iranian maize inbred lines. *Field Crop. Res.*, 95(2–3), 212–222. doi: 10.1016/j.fcr.2005.02.011
 26. Jompuk, C., Fracheboud, Y., Stamp, P., & Leipner, J. (2005). Mapping of quantitative trait loci associated with chilling tolerance in maize (*Zea mays* L.) seedlings grown under field conditions. *J. Exp. Bot.*, 56(414), 1153–1163. doi: 10.1093/jxb/eri108
 27. Kumar, B., Rakshit, S., Singh, R. D., Gadag, R. N., Nath, R., & Paul, A. K. (2008). Genetic Diversity of Early Maturing Indian Maize (*Zea mays* L.) Inbred Lines Revealed by SSR Markers. *J. Plant Biochem. Biotechnol.*, 17(2), 133–140. doi: 10.1007/BF03263274
 28. Laborda, P. R., Oliveira, K. M., Garcia, A. A., Paterniani, M. E., & de Souza, A. P. (2005). Tropical maize germplasm: what can we say about its genetic diversity in the light of molecular markers? *Theor. Appl. Genet.*, 111(7), 1288–1299. doi: 10.1007/s00122-005-0055-7
 29. Liu, X., Zhang, Y., Zheng, Z., Li, Z., He, C., Liu, D., ... Tan, Z. (2010). QTL Mapping for Controlling Days to Pollen Shed under Different Nitrogen Regimes in Maize. In *Proc. 4th Int. Conf. on Bioinformatics and Biomedical Engineering* (pp. 1–4). June 18–20, 2010, IEEE, Chengdu, China. doi: 10.1109/icbbe.2010.5518247
 30. Wang, A. Y., Li, Y., & Zhang, C. Q. (2012). QTL mapping for stay-green in maize (*Zea mays*). *Can. J. Plant Sci.*, 92(2), 249–256. doi: 10.4141/cjps2011-108
 31. Zhao, Y., Zhang, Y., Wang, L., Wang, X., Xu, W., Gao, X., & Liu, B. (2018). Mapping and functional analysis of a maize silkless mutant *sk-A7110*. *Front. Plant Sci.*, 9, 1227. doi: 10.3389/fpls.2018.01227

УДК 631.527:633.15:632.111.6:577.213.7

Жемойда В. Л.¹, Присяжнюк Л. М.^{2*}, Красновский С. А.³, Башкирова Н. В.¹, Шитикова Ю. В.², Мельник С. И.²

Оценка инбредных линий кукурузы по признаку холодоустойчивости и SSR маркерам // Plant Varieties Studying and Protection. 2019. Т. 15, № 4. С. 372–381. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.15.4.2019.188553>

¹Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, ул. Героев Оборона, 15, г. Киев, 03041, Украина

²Украинский институт экспертизы сортов растений, ул. Генерала Родимцева, 15, г. Киев, 03041, Украина,

*e-mail: prysiazhniuk_l@ukr.net

³KWS-Украина, б-р Дружбы Народов, 19, г. Киев, 01042, Украина

Цель. Классификация исходного материала кукурузы по степени холодоустойчивости, идентификация самоопыленных линий кукурузы в лабораторных и полевых условиях по холодоустойчивости, основным хозяйственно-ценными показателями и их генотипирование на основе SSR маркеров. **Методы.** Полевые и лабораторные методы, молекулярно-генетический анализ. **Результаты.** В результате исследований на основе *cold test* проведено ранжирование самоопыленных линий кукурузы в соответствии с уровнем их холодоустойчивости. На результат ранжирования не влияет тип зерна, поскольку к наиболее холодостойким принадлежат линии с различным типом зерна. Полевая всхожесть линий кукурузы варьировала в зависимости от срока посева и составила 32,1–87,8% при первом (6–6,5 °C) сроке посева, 41,8–88,5% – при втором (8–8,5 °C) и 51,1–90,0% – при третьем (10–10,5 °C). Самоопыленные линии: HLG 1203, HLG 1238, Co 255, UCH 37 и FV 243, Q170, AK 135, F2, L155 и P165 имели лучшую регенеративную способность и высокую всхожесть в условиях холодного проращивания семян и ее сохранение относительно контроля. По результатам по-

левых исследований выделены линии Co 255, HLG 1203, HLG 1238 и Q 170, в которых были отмечены высокие показатели процента сохранения всхожести по сравнению с контролем. По показателям урожайности самоопыленных линий кукурузы определено, что они по-разному реагируют на сроки посева. В результате ПЦР анализа 13 холодостойких линий определен генетический полиморфизм по 5 SSR маркерам. Согласно полученным результатам установлено наличие от 3 до 7 аллелей. Индекс полиморфности локуса (PIC) составил 0,56–0,86. Определено, что по трем маркерами bnlgl129, bnlgl1782 и phi064 в исследуемых линиях был обнаружен внутрилинейный полиморфизм. Результаты исследований позволили определить четыре кластера, которые отражают степень генетической близости по исследуемым маркерам. Линии Ak 135 и Ak 153, которые вошли в один кластер, являются наиболее родственными, а наиболее удаленными – Co225 и Q 170. Полученные данные свидетельствуют, что исследуемые линии кукурузы сформировали кластеры в соответствии с их происхождением и некоторые – в соответствии с их холодоустойчиво-

стью. **Выводы.** По результатам исследований выделено 7 самоопыленных линий кукурузы (Co 255, HLG 1203, HLG 1238, Q 170, UCH 37, Ak 135, FV 243), которые являются ценными источниками при селекции на холодоустойчивость.

Ключевые слова: самоопыленные линии кукурузы; холодоустойчивость; SSR маркеры; ДНК.

UDC 631.527:633.15:632.111.6:577.213.7

Zhemoida, V. L.¹, Prysiazhniuk, L. M.^{2*}, Krasnovskiy, S. A.³, Bashkirova, N. V.¹, Shytikova, Yu. V.², & Melnyk, S. I.² (2019). The estimation of corn inbred lines by cold resistance and SSR markers. *Plant Varieties Studying and Protection*, 15(4), 372–381. <https://doi.org/10.21498/2518-1017.15.4.2019.188553>

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, 15 Heroiv Oborony St., Kyiv, 03041, Ukraine,

*e-mail:breedingdepartment@gmail.com

²Ukrainian Institute for Plant Variety Examination, 15 Henerala Rodymtseva St., Kyiv, 03041, Ukraine, *e-mail:prysiazhniuk_l@ukr.net

³KWS-Ukraine, 19 Druzhby Narodiv Blvd, Kyiv, 01042, Ukraine, *e-mail: sergiy.krasnovskiy@kws.com

Purpose. Classification of the source material of maize by the rate of cold resistance, identification of self-pollinated maize lines in laboratory and field conditions by cold resistance and main economically valuable indicators, and their genotyping based on SSR markers. **Methods.** Field and laboratory methods, molecular genetic analysis. **Results.** As a result of studies based on the *cold test*, the ranking of self-pollinated lines of corn on 6 groups was carried out in accordance with the level of their cold resistance. It was revealed that the type of grain does not affect the ranging result, since lines with different types grain belong to the most cold-resistant ones. It was determined that field germination of maize lines varied depending on the sowing period and amounted to 32.1–87.8% at the first (6–6.5 °C), 41.8–88.5% at the second (8–8.5 °C) and 51.1–90.0% at the third (10–10.5 °C) sowing dates. It was determined that self-pollinated lines: HLG 1203, HLG 1238, Co 255, UCH 37 and FV 243, Q170, AK 135, F2, L155 and P165 have the best regenerative ability and high germination under conditions of cold germination of seeds and its maintaining relatively to control. Based on the results of field studies, the lines Co 255, HLG 1203, HLG 1238, and Q 170 were identified, in

which the germination rate (in percent) was high compared to the control. Based on the assessment of the yield of self-pollinated maize lines, it was determined that they react differently to the sowing dates. As a result of PCR analysis of 13 cold-resistant lines, genetic polymorphism was determined by 5 SSR markers. According to obtained results, the presence of 3 to 7 alleles was revealed. PIC was 0.56–0.86. It was determined that, using the three markers bnlg1129, bnlg1782 and phi064, intralinear polymorphism was detected in the studied lines. The results of the studies allowed to obtain four clusters which reflect the degree of genetic proximity to the studied markers. It was found that lines the Ak 135 and Ak 153 entered the same cluster are the most related and the most distant lines are Co225 and Q 170. The obtained data indicate that the studied maize lines formed clusters according to their origin and some lines according to their cold resistance. **Conclusions.** According to the results of studies, 7 self-pollinated lines of corn (Co 255, HLG 1203, HLG 1238, Q 170, UCH 37, Ak 135, FV 243) were indentify. They are valuable sources for breeding to cold resistance.

Keywords: self-pollinated maize lines; cold resistance; SSR markers; DNA.

Надійшла / Received 13.09.2019

Погоджено до друку / Accepted 02.11.2019