

# АГРАРНАЯ РОССИЯ

НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЖУРНАЛ

№ 6

2004

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В РАСТЕНИЕВОДСТВЕ. Часть I

### ЧИТАЙТЕ В НОМЕРЕ:

К 80-летию со дня рождения <i>Емцева Всеволода Тихоновича</i> . . . . .	2
<i>Стрельченко П. П., Митрофанова О. П., Конарев А. В.</i> Сравнение возможностей RAPD-, AFLP- и SSR-маркеров для различения местных сортов гексаплоидных пшениц . . . . .	3
<i>Митрофанова О. П., Стрельченко П. П., Конарев А. В.</i> Структура генетических взаимосвязей между местными сортами гексаплоидных пшениц по данным RAPD-, AFLP- и SSR-анализов. . . . .	10
<i>Антонова О. Ю., Швачко Н. А., Костина Л. И., Малышев Л. Л., Гавриленко Т. А.</i> Генетическая дифференциация сортов картофеля с использованием SSR-маркеров . . . . .	19
<i>Антонова О. Ю., Трускинов Э. В., Фролова Д. В., Гавриленко Т. А.</i> Анализ генетической стабильности образцов картофеля, сохраняемых в условиях <i>in vitro</i> . . . . .	25
<i>Конарев А. В., Губарева Н. К., Корнюхин Д. Л., Бернер А.</i> Анализ генетической стабильности образцов коллекции мягкой пшеницы в процессе многолетнего поддержания путем многократных репродукций. . . . .	30
<i>Сидорова В. В., Конарев А. В., Матвеева Г. В., Тимофеева Г. И.</i> Использование электрофоретического спектра зеина для прогнозирования гетерозиса у кукурузы. . . . .	34
<i>Алпатьева Н. В., Гаврилюк И. П., Леонтьева Н. А., Орешко Л. С., Красильников В. А., Барсукова Н. А., Лоскутов И. Г.</i> Пропламины и целиакия. . . . .	41
<i>Зеленская Я. Г., Конарев А. В., Лоскутов И. Г., Губарева Н. К., Стрельченко П. П.</i> Характеристика старо-местных форм овса посевного ( <i>Avena sativa</i> L.) из коллекции ВИР по полиморфизму авенина . . . . .	50
Авторский указатель . . . . .	59
Указатель статей, опубликованных в 2004 г. . . . .	61

16. Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach // *Cancer Res.* — 1967. — V. 27. — P. 209 – 220.
17. Miller T. E. Systematics and evolution // In: *Wheat breeding, its scientific basis* / Lupton FGH (ed.). — Chapman and Hall, London & New York. — 1987. — P. 1 – 30.
18. Mohammadi S. A, Prasanna B. M. Analysis of genetic diversity in crop plants — salient statistical tools and considerations // *Crop Sci.* — 2003. — V. 43. — P. 1235 – 1248.
19. Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1979. — V. 76. — P. 5269 – 5273.
20. Pejic I., Ajmone-Marsan P., Morgante M., et al. Comparative analysis of genetic similarity among maize inbred lines detected by RFLPs, RAPDs, SSRs, and AFLPs // *Theor. Appl. Genet.* — 1998. — V. 97. — P. 1248 – 1255.
21. Perez de la Vega. Plant genetic adaptedness to climatic and edaphic environment. // *Adaptation in plant Breeding* / Ed. P. M. A. Tigerstedt. — 1997. — P. 27 – 38.
22. Rohlf F. J. NTSYS-pc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.02f. — Exeter Software, Setauket, New York, 1998.
23. StatSoft, Inc. STATISTICA (data analysis software system), version 6. — 2001. — [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
24. Ward J. H. Jr. Hierarchical grouping to optimize an objective function // *J. Am. Stat. Assoc.* — 1963. — V. 58. — P. 236 – 244.

Митрофанова О. П., докт. биол. наук; Стрельченко П. П., канд. биол. наук;  
 Конарев А. В., докт. биол. наук, профессор; Государственный научный центр (ГНЦ) РФ  
 Всероссийского НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ SSR-МАРКЕРОВ

**О. Ю. Антонова, Н. А. Швачко, Л. И. Костина,  
 Л. Л. Малышев, Т. А. Гавриленко**

С использованием микросателлитных маркеров изучали генетическую дифференциацию 58 сортов картофеля различного уровня генетического родства, как отечественной так и зарубежной селекции. 10 пар праймеров позволили дифференцировать изученные сорта по 171 микросателлитному фрагменту. Кластерный анализ, проведенный с использованием системы STATISTICA 6.0 по алгоритмам Ворда и UPGMA, разделил изученные сорта на 4 кластера, каждый из которых включал по два субкластера. Выявленные связи между сортами достаточно хорошо соотносились с их родословными, хотя полного соответствия обнаружено не было. Отобранные SSR-маркеры будут использованы в дальнейших исследованиях по разработке системы идентификации и паспортизации сортов картофеля, определения генетической однородности сорта, а также для анализа генетической стабильности образцов картофеля, сохраняемых в условиях *in vitro*.

### Введение

Коллекция видов и сортов картофеля ВИР содержит около 9000 образцов, из них примерно 2000 составляют сорта отечественной и зарубежной селекции. В ВИРе сорта картофеля поддерживаются в живом виде в полевых условиях и частично — в культуре *in vitro*, что позволяет избежать потери образцов из-за накопления инфекций или действия неблагоприятных факторов среды. При хранении больших коллекций возникает проблема контроля, идентификации и документации сохраняемого генофонда. Эта проблема особенно актуальна для *in vitro* коллекций, поскольку у пробирочных растений невозможно определить весь комплекс свойственных каждому сорту морфологических и хозяйственно-ценных признаков.

В последнее десятилетие в целях оценки генетического разнообразия коллекционных образцов, оценки внутривидовых связей и для идентификации сортов картофеля все шире применяются молекулярные методы, основанные на использовании изоферментных [9], RAPD- [4, 7, 8, 19], SSR- [6, 10, 13 – 16], RFLP- [5] и

AFLP-маркеров [11, 12]. Поскольку недостатком RAPD анализа является невысокая воспроизводимость результатов, а последние два метода — относительно дорогостоящи и требуют более сложного лабораторного оборудования, то в последнее время предпочтение отдается SSR-маркерам, успешно сочетающим высокий уровень полиморфизма и хорошую воспроизводимость результатов [12].

Микросателлитные или SSR-последовательности — это участки генома, состоящие из очень коротких (1–6 пар нуклеотидов), тандемно повторяющихся последовательностей. Фрагменты ДНК, содержащие SSR-последовательности, могут быть амплифицированы с использованием специфичных праймеров. При этом последовательности SSR-праймеров выбирают в уникальных участках, фланкирующих район тандемного повтора. Относительно большой размер таких праймеров (по сравнению с RAPD-праймерами) снижает риск их неспецифического связывания и тем самым обеспечивает высокую воспроизводимость результатов. Кроме того, многие микросателлиты могут быть сцеп-

лены с конкретными генами [10] или картированы на хромосомах, что позволяет изучать полиморфизм по отдельным (специфичным) участкам генома, а не полиморфизм по случайным, анонимным локусам как в случае RAPD-анализа.

Возделываемые сорта культурного картофеля *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* являются тетраплоидными высокогетерозиготными растениями. У таких форм каждый локус может быть представлен несколькими разными аллелями. Поэтому использование полиморфных SSR-маркеров, анализирующих высоковариабельные участки генома и характеризующихся кодоминантным характером наследования, является эффективным подходом к выявлению внутривидового полиморфизма у данной культуры.

Цель настоящей работы состояла в анализе генетической дифференциации сортов картофеля с использованием микросателлитных маркеров. Для настоящего исследования были отобраны сорта картофеля отечественной и зарубежной селекции различного уровня генетического родства. Родословные большинства сортов были составлены и проанализированы ранее [1].

#### Методы исследования

Материал для исследования включал 58 сортов картофеля из коллекции ВИР (табл. 1). ДНК выделяли из листьев растений, выращенных в полевых условиях (в работу включали по 3 – 5 растений каждого сорта), фенольно-детергентным методом [22] с некоторыми модификациями. Очистка ДНК от полифенольных соединений была проведена с помощью поливинилпирролидона.

Анализ полиморфизма микросателлитных локусов ядерной ДНК картофеля проводили с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР). В работе были использованы 25 пар SSR-праймеров, которые согласно литературным данным способны выявлять внутривидовой полиморфизм у разных видов картофеля [10, 15, 20].

**Таблица 1.** Список сортов картофеля и их распределение по различным генетическим группам согласно результатам кластерного анализа методом Ворда

Сорт	№ по каталогу ВИР	Страна происхождения (селекцентр), год создания сорта	Распределение по кластерам и субкластерам
Agave	**	Германия	C1
Apta*	к-19594	ФРГ, 1951	A2
Carla	к-5151	ФРГ, 1960	C2
Delikat	**	ГДР	B1
Deodara	к-255	Германия, 1913	A1
Dorisa	к-19526	ГДР, 1984	B1
Ella	к-346	Германия, 1898	D
Galina	к-10319	ГДР, 1974	A1
Hilta	к-19469	ФРГ, 1949	A1
Hindenburg*	к-24076	Германия, 1916	B
Irish Cobbler	к-24157	Германия, 1876	D
Karlana	к-21119	ГДР, 1988	B1

Сорт	№ по каталогу ВИР	Страна происхождения (селекцентр), год создания сорта	Распределение по кластерам и субкластерам
Клон	**	Селекц. форма, Германия	B2
Paul Wagner	к-735	Германия, 1928	A1
Turbella	к-17222	ГДР, 1977	B1
Russet Burbank	к-24158	США, 1880	C2
Bintjie	к-19541	Нидерланды, 1910	A1
Dorma 101	к-6108	Чили	D
Monticum	к-16981	—"	C2
Palmeta	к-7504	—"	D
Негр	ПВ-79	—"	C2
Зарево	к-10773	Украинский НИИКХ, 1983	B1
Луговской	к-11658	—", 1987	C2.
Лыбидь	к-12059	—", 2000	B1
Свитанок Киевский	к-11665	—", 1987	B1
Атлант*	к-11922	Белорусский НИИК, 1996	B1
Выток	к-11897	—", 1995	C2
Комсомолец-20	к-10723	—", 1979	A1
Милавица	к-11909	—", 1996	B2
Нарочь	к-10948	—", 1986	C2
Скарб	к-11904	—", 1995	C2
Сузорье	к-11992	—", 1999	A2
Темп	к-6924	—", 1966	C1
Заравшан	к-11276	Самарканд. СХИ, 1985	B1
Приекульский ранний	к-1350	Латвийский НИИЗ, 1953	A1
Арина	к-10157	СЗНИИСХ, 1977	C2
Гатчинский	к-6830	—", 1969	A1
Елизавета	к-11911	—", 1996	C1
Изора	к-11279	—", 1985	A1
Невский	к-10736	—", 1977	C2
Оредежский	к-11912	—", 1996	D
Петербургский	к-11913	—", 1996	C1
Чародей	к-11908	—", 1995	C2
Жуковский ранний	к-11825	Коренево ВНИИКХ, 1993	A1
Лорх	к-1070	—", 1931	A1
Синеглазка	к-10759	—", 1952	A1
Веселовский 2 – 4	к-6886	ЛСХИ, г. Пушкин, 1962	A1
Пушкинец	к-11905	—", 1993	A2
Радуга	к-11988	—", 1999	A1
Детскосельский	к-2902	ВИР, 1956	A1
Камераз	к-1555	—", 1951	C2
Повировец*	к-6914	Полярная ОС ВИР	A1
Энергия	к-11994	МОВИР, 1990	A1
Северная роза	к-6863	Фаленская ОС, 1950	D
Утенок	к-11915	Пензенский НИИСХ, 1996	C1
Марс	к-12000	СПХ "Ильинское", 1999	B1
Приобский	к-10139	Нарымская ОС, 1960	D
Катунский	к-11990	Алтайская экспедиция	A1

\* Проанализированные по 7 SSR-праймерам; \*\* получены из Института культурных растений, Гросс Люзевиц, Германия.

**Таблица 2.** Характеристика SSR праймеров, использованных в работе

Название*	Мотив	Последовательность**	$T_m$ ***	Число полиморфных компонентов <sup>x</sup>
STM 1049 [12]	(ata) <sub>6</sub>	F: cta cca gtt tgt tga ttg tgg tg R: agg gac ttt aat ttg ttg gac g	59	0
STM 2020 [12]	(taa) <sub>6</sub>	F: cct tcc cct taa ata caa taa ccc R: cat gga gaa gtg aaa acg tct g	59	0
STM 0038 [12]	(ta) <sub>4</sub> (tg) <sub>12</sub>	F: aac tct agc agt att tgc ttc a R: tta ttt agc gtc aaa tgc ata	53	0
STM 3018 [12]	(ga) <sub>9</sub>	F: cca aaa gtc cgg caa act t R: cca tat gag gcc cct ttt tac	59	0
STM 1058 [12]	(att) <sub>5</sub>	F: aca att taa ttc aag aag cta gg R: cca aat ttg tat act tca taa tga	53	0
STM 3016 [12]	(ga) <sub>27</sub>	F: tca gaa cac cga atg gaa aac R: gct cca act tac tgg tca aat cc	60	0
STM 1041 [12]	(gaa) <sub>5</sub>	F: gtt gag tag aag gag gat t R: cct ttg tct tct gct ttt g	48	0
STM 1089 [12]	(att) <sub>6</sub>	F: ctc acc cac aaa gaa aat tc R: cta aca aac att gta caa caa taa tc	54	0
STM 1100 [12]	(ta) <sub>22</sub>	F: gct teg cca tct taa tgg tta R: tct teg aag gta cgt tta gac aa	58	0
STM 0028 [12]	(ac) <sub>12</sub> (at) <sub>5</sub> (ag) <sub>8</sub>	F: cat aaa tgg tta tac acg ctt tgc R: taa tgg agt tcc tga aaa gaa agg	59	0
STM 1024 [12]	(ttg) <sub>6</sub>	F: ata cag gac ctt aat ttc ccc aa R: tca aaa ccc aat tca atc aaa tc	60	2
P5 [10]	(c)p (ct)q (at)r (g)s	F: cat gtg gtt gtt aga cac cac tag t R: ttt ggc aca agc aag ggt aga agg	60	> 100
ST I-NHWI [15]	(ct) <sub>3</sub> tt(ct) <sub>8</sub> (at) <sub>9</sub>	F: gga gtc aaa gtt tgc tca cat c R: cac cct caa ccc cca tat c	55	> 100
ST I-NHWI [15]	(ct) <sub>3</sub> tt(ct) <sub>8</sub> (at) <sub>9</sub>	F: gga gtc aaa gtt tgc tca cat c R: cac cct caa ccc cca tat c	55	> 100
STU6-NRN [15]	(tgg) <sub>5</sub>	F: gaa gtt tta tca gaa tcc R: atc acc tca tca gca atc	55	> 100
P1* [10]	(tcac)m	F: tct ctt gac acg tgt cac tga aac R: tca ccg att aca gta ggc aag aga	60	35
P2* [10]	(tcac)m(ctt)n	F: tct ctt gac acg tgt cac tga aac R: ttg cca tgt gat gtg tgg tct aca a	60	7
P3* [19]	(ctt) <sub>4</sub>	F: tga ttc tct tgc cta ctg taa tcg R: agt cag agt atg gtt cct gag tcc	55	8
P4* [19]	(actc) <sub>5</sub>	F: ccc ata ata ctg teg atg agc a R: gaa tgt agg gaa aca tgc atg a	60	32
P7* [19]	(aag) <sub>8</sub>	F: ttc tga ttt cat gca tgt ttc c R: atg tgt ggt cta caa aaa ggg g	58	22
P9* [19]	(aatt) <sub>5</sub>	F: caa cca aca agg taa atg gta cc R: tgg tct ggt gca tta gaa aaa a	55	7
P10* [19]	(aga) <sub>5</sub>	F: ttc aga gac atc atg gca act t R: atc ctt cat cag agg aag aat cc	60	17
P11* [15]	(t) <sub>12</sub> (a) <sub>9</sub> attctgtt (ta) <sub>2</sub> ca(ta) <sub>7</sub>	F: ttc gtt gct tac cta cta R: ccc aag att acc aca ttc	48	9
P15* [15]	(at) <sub>11</sub>	F: tat tcc ccc ttc cta ctc aa R: tct tcc aca ttc cta acc tg	58	19
P16* [15]	(ta) <sub>23</sub>	F: tgt act ggg gag cct caa ag R: aat ttt aac ctc gtg aca tgg g	55	15

\* Обозначения даны согласно [2];

\*\* F и R — прямой и обратный праймер соответственно;

\*\*\*  $T_m$  — температура отжига;

<sup>x</sup> — по результатам настоящей работы.

Реакционная смесь для проведения SSR-анализа объемом 20 мкл содержала 100 нг ДНК картофеля, 1 единицу Taq-полимеразы (Silver Star, Германия), однократный реакционный буфер, предложенный фирмой-производителем фермента, 2,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,1 мМ каждого из дезоксинуклеотидов, 300 пМ каждого из праймеров. ПЦР проводили по схеме: 94°C в течение 4 мин, затем 31 цикл (94°C — 45 с, T<sub>m</sub> (отжиг) — 1,5 мин, 72°C — 2 мин) и в заключение 72°C — 5 мин. Температура отжига (T<sub>m</sub>), специфичная для разных пар SSR-праймеров, указана в табл. 2. Продукты реакции разделяли электрофорезом в 10% полиакриламидном геле и окрашивали нитратом серебра [5].

Исходная матрица данных была создана следующим образом. Спектры сортов, полученных с использованием SSR-праймеров, анализировали на предмет наличия (данные записаны как цифра 1) или отсутствия (данные записаны как цифра 0) конкретного хорошо воспроизводимого полиморфного компонента ДНК. Учитывали только те фрагменты, размер которых примерно соответствовал размерам микросателлитных локусов, указанных в литературе (см. табл. 2).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ STATISTICA 6.0 [18]. Этот пакет предлагает несколько алгоритмов иерархического анализа, различающихся по критерию последовательного объединения объектов в кластеры: по минимальному и максимальному значениям, по среднему группы (UPGMA), и метод Ворда, учитывающий дисперсию расстояний (сходства) внутри группы. Различные алгоритмы кластеризации дают различающиеся дендрограммы. Дендрограммы, полученные методом минимального и максимального значения, в целом имеют тенденцию образовывать лестницу последовательно вложенных кластеров, тогда как алгоритм Ворда — гиперизолированные кластеры. Алгоритм UPGMA занимает промежуточное положение по форме дерева. В данной работе кластерный анализ проводили на базе транспонированной матрицы встречаемости компонентов по алгоритмам Ворда [21] и UPGMA [17].

## Результаты и обсуждение

Для оценки внутривидового полиморфизма картофеля *S.tuberosum* ssp. *tuberosum* использовали 25 пар SSR-праймеров (табл. 2). Из них 15 пар праймеров были исключены из анализа отобранных нами сортов, поскольку эти праймеры или инициировали синтез только непалиморфных фрагментов, или давали очень много слабых компонентов, которые трудно использовать для сравнения и идентификации образцов. Таким образом, из 25 пар праймеров было отобрано только десять (№№ 16 – 25, табл. 2), дающих четкие полиморфные компоненты, которые хорошо воспроизводились в различных условиях, в том числе и при использовании Таq-полимераз от различных фирм-изготовителей. Отобранные пары праймеров обнаружили различный уровень полиморфизма между сортами, выявляя от 7 до 35 полиморфных фрагментов ДНК (табл. 2). Анализ спектров 58 сортов картофеля выявил значительное разнообразие изученных нами образцов (рис. 1). Сорта с полностью идентичными спектрами, полученными с использованием всех десяти отобранных пар праймеров, обнаружено не было. Всего у 58 изученных сортов был выявлен 171 полиморфный компонент. На основе информации об их наличии или отсутствии у сортов была создана матрица исходных данных.

Кластерный анализ с использованием алгоритма Ворда разделил изученные сорта на четыре кластера (А, В, С и D), каждый из которых включал по два субкластера (рис. 2). Самой многочисленной группой, объединяющей 19 сортов, являлся кластер А. Кластеры В, С и D объединили 11, 17 и 7 сортов соответственно.

Распределение сортов картофеля по группам связано с общностью их происхождения. Так, кластер А включил сорт Приекульский ранний и три сорта, созданные на его основе (Изора, Гатчинский, Повировец). По комплексу морфологических признаков сорт Приекульский ранний очень близок к немецкому сорту Clivia. На основе этого сорта был создан немецкий сорт Hiltа, также входящий в состав кластера А наряду с тремя

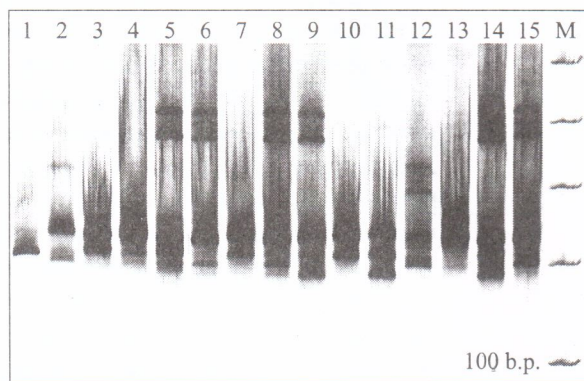


Рис. 1. Пример электрофоретических спектров продуктов амплификации ДНК сортов картофеля: 1 — Елизавета, 2 — Palmeta, 3 — Dorma, 4 — Montticum, 5 — Dorisa, 6 — Пушкинец, 7 — Арина, 8 — Galina, 9 — Приекульский ранний, 10 — Камераз, 11 — Северная Роза, 12 — Повировец, 13 — Hindenburg, 14 — Deodora, 15 — Гатчинский, полученных с использованием SSR праймера P1; М — молекулярный маркер

другими сортами немецкого происхождения (Paul Wagner, Deodara, Galina). Кластер А также включил сорта Пушкинец и Веселовский селекции ЛСХИ и Энергия (МоВир), имеющие общую генетическую основу. Эти сорта созданы с использованием старого немецкого сорта Rosafolia. Родословная трех сортов из кластера А (Радуга, Синеглазка и Катунский) не известна, поэтому их принадлежность к данной группе сортов объяснить сложно.

В кластер В вошли 7 генетически близкородственных сортов: Dorisa, Turbella, Karlena, Delikat, Свитанок Киевский, Лыбидь и 158/1, являющихся производными германских сортов Capella и Schwalbe. Необходимо от-

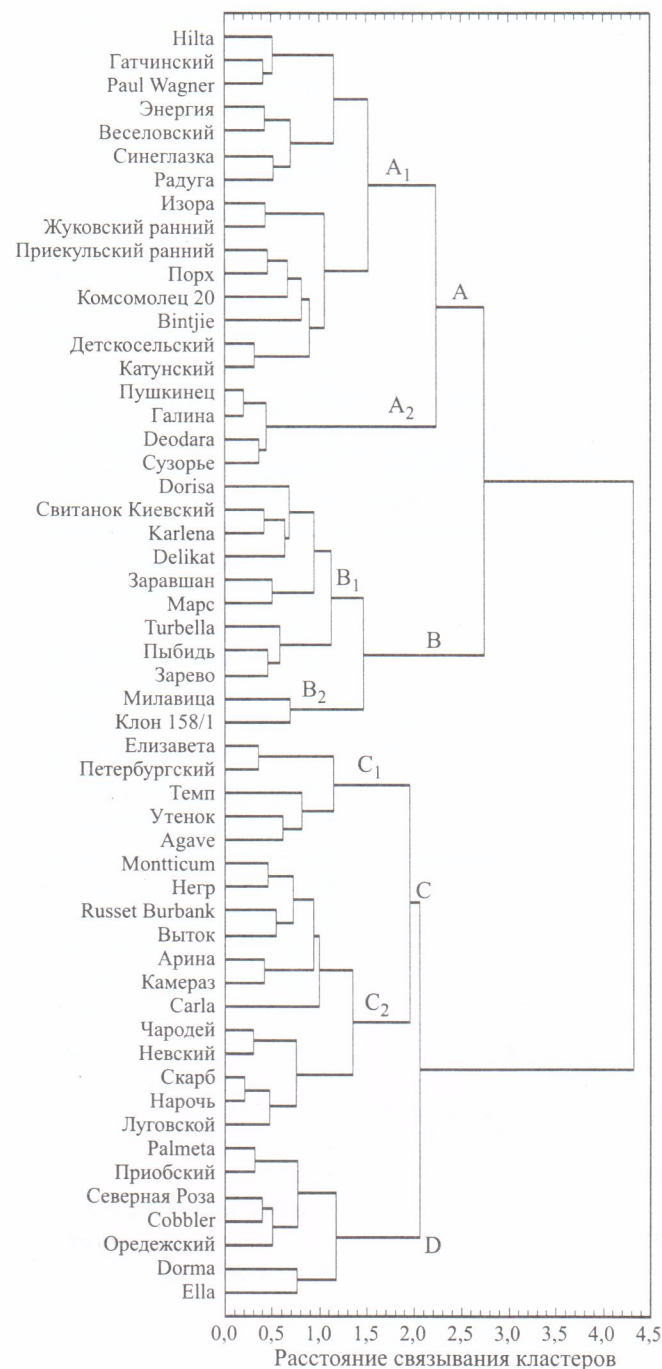


Рис. 2. Дендрограмма распределения сортов картофеля, полученная по результатам кластерного анализа методом Ворда

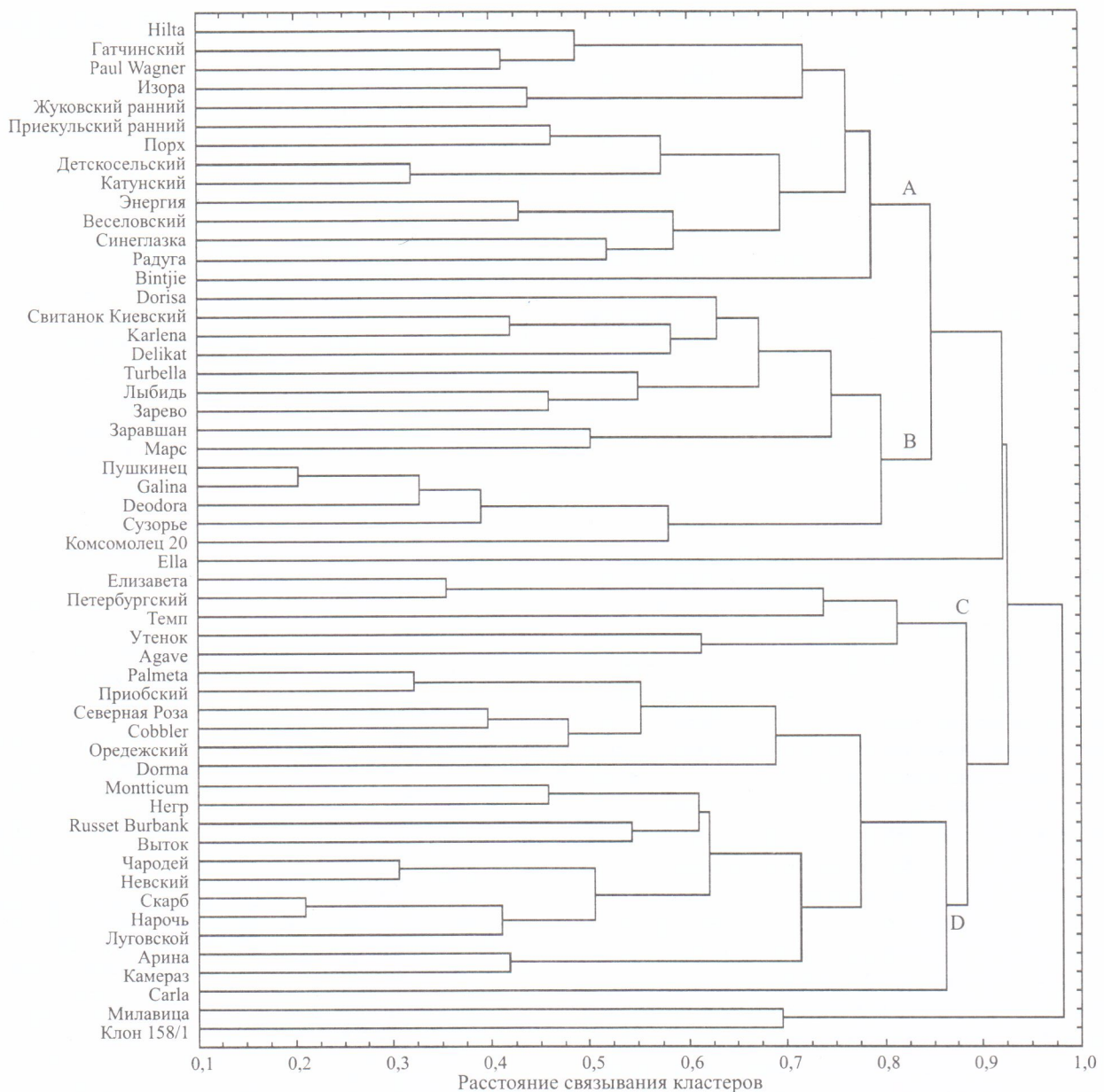


Рис. 3. Дендрограмма распределения сортов картофеля, полученная по результатам кластерного анализа методом UPGMA

метить, что близкие к ним по происхождению 2 германских сорта Galina и Deodara из субкластера  $A_2$  примыкают к кластеру В внешней ветвью (рис. 2). Объединение в кластере В перечисленных выше 7 германских сортов и сорта Заравшан (СХИ) можно объяснить происхождением последнего от германского сорта Ada, входящего в родословные отдельных германских сортов (например, Turbella). Кластер В также включил украинский сорт Зарево и полученный непосредственно от него белорусский сорт Милавица. В этот же кластер вошел сорт Марс, родословная которого нам не известна.

Наиболее разнородный кластер С объединил сорта, созданные в Германии, Белоруссии, США, Чили, России и Украине. В этот кластер попадает наибольшее число сортов с неизвестными родословными, например: Луговской (родословная включает только номерные гибриды), Утенок, Agave, Нарочь, Скарб, Чародей. В кластере С четко выделяются пары сортов, созданные

в одном и том же селекцентре, по-видимому, с использованием сходного селекционного материала: Нарочь-Скарб (БелНИИК, субкластер  $C_2$ ), Невский-Чародей (СЗНИИКХ, субкластер  $C_2$ ), Негр-Monticum (Чили, субкластер  $C_2$ ). Близость морфологических и агрономических характеристик сортов, составляющих перечисленные выше пары, также подтверждает их общее происхождение. Объяснения взаимосвязей между этими парами не найдено. Объединение в один субкластер ( $C_2$ ) сортов Камераз и Выток объясняется их общим происхождением от сорта Фитофтор устойчивый. Объединение в один подкластер ( $C_2$ ) чилийских сортов (Негр и Monticum) и сорта Камераз можно объяснить наличием в родословной сорта Камераз сорта Daber, являющегося сеянцем чилийского происхождения. Объединение в пару сортов Петербургский-Елизавета (СЗНИИКХ, подкластер  $C_1$ ) связано с их общим происхождением от сорта Omega.

Кластер D в основном объединяет сорта чилийского происхождения: аборигенные сорта Dorma и Palmeta, а также старые европейские сорта Ella, Cobbler и Северная Роза, созданные непосредственно на основе чилийских форм. Так, материнской формой сортов Ella, Cobbler и Северная Роза был стародавний сорт Early Rose, отобранный в потомстве от самоопыления сорта Garnet Chili, который является сеянцем чилийской формы Rough Purple Chili (образец из ранней интродукции Гудрича 1848 г.). Сорт Детскосельский (кластер А), созданный на основе сорта Early Rose, не вошел в состав кластера D, что может быть связано с наличием в его родословной дикого вида *S. demissum* и культурного вида *S. andigenum* var. *bolivianum*. В кластер D вошел также сорт Оредежский, родословная которого нам не известна.

На дендрограмме, полученной с использованием алгоритма UPGMA, в один кластер В вошли все 8 германских сортов, созданных на основе Capella и Schwalbe. Все чилийские сорта (Негр, Montticum, Dorma и Palmeta) также объединились в отдельную группу и вошли в кластер D (рис. 3). В то же время сорта отечественной селекции на обеих дендрограммах (рис. 2, 3) расположились достаточно разрозненно, что указывает на их генетическую неоднородность. Мы полагаем, что это связано с широким применением межвидовой гибридизации в отечественной селекции картофеля. Так, например, сорта, созданные на основе Приекульского раннего, вошли в три разных кластера (рис. 2). В состав кластера А вошли сорта Приекульский ранний и его производные — Изора, Гатчинский и Повировец. А сорта Арина и Приобский, созданные на основе скрещиваний Приекульского раннего с межвидовыми гибридами, вошли в кластеры С и D соответственно.

Таким образом, 10 пар SSR-праймеров позволили дифференцировать по 171 компоненту 58 сортов картофеля различного уровня генетического родства. Все изученные нами сорта, включая близкородственные, различались между собой. Выявленные в настоящей работе связи между сортами достаточно хорошо соотносились с их родословными, хотя полного соответствия выявлено не было.

Отобранные SSR-маркеры будут использованы в дальнейших исследованиях по разработке системы идентификации и паспортизации сортов картофеля, определения генетической однородности и подлинности сорта, а также для анализа генетической стабильности образцов картофеля, сохраняемых в условиях *in vitro*.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Выделение исходного материала для селекции картофеля на основе генеалогии // Метод. указания. / Ред. Костина Л. И. — СПб., 1992. — 105 с.
2. Antonova O., Kostina L., Schuler K., Thieme R. Proof of long-term stored potato germplasm by use of molecular markers. Rudolf Mansfeld and Plant Genetic Resources // Knupffer H. and Ochsmann J. (eds.). Proceedings of symposium dedicated to

- the 100th birthday of Rudolf Mansfeld, Gatersleben, Germany, 8–9 October, 2001. — *Schriften Genet. Res.* — 2003. — V. 18. — P. 192–197.
3. Budowle B. and Allen R. C. Discontinuous polyacrylamide gel electrophoresis of DNA fragments: Methods in molecular biology // C. Mathew (eds.). — Clifton: Humana Press, 1991. — V. 9. — P. 123–132.
4. Demeke T., Kawchuk L. M., Lynch D. R. Identification of potato cultivars and clonal variants by random amplified polymorphic DNA analysis // *Am. Potato J.* — 1993. — V. 70. — P. 561–570.
5. Gebhardt C., Blomendahl C., Schachtschabel U., et al. Identification of 2n breeding lines and 4n varieties of potato (*Solanum tuberosum*, ssp. *tuberosum*) with RFLP-fingerprints // *Theor. Appl. Genet.* — 1989. — V. 78. — P. 16–22.
6. Ghislain M., Rodriguez F., Villamon F., et al. Establishment of microsatellite assay for potato genetic identification // *CIP Prog. Rep.* — 1999–2000. — Res. on Potato. — P. 167–174.
7. Ghislain M., Zhang D., Fajardo D., et al. Marker-assisted sampling of cultivated Andean potato *Solanum phureja* collection using RAPD markers // *Gen. Res. Crop Evol.* — 1999. — V. 46. — P. 547–555.
8. Hosaka K., Mori M., Ogawa K. Genetic relationships of Japanese potato cultivars assessed by RAPD analysis // *Am. Potato J.* — 1994. — V. 71. — P. 535–546.
9. Huaman Z., R. Ortiz, D. Zhang, F. Rodriguez isozyme analyses of the entire and core collections of *Solanum tuberosum* subsp. *andigena* potato cultivars // *Crop Sci.* — 2000. — V. 40. — P. 273–276.
10. Kawchuk L. M., Lynch D. R., Thomas J., et al. Characterization of *Solanum tuberosum* simple sequence repeats and application to potato cultivar identification // *Am. Potato J.* — 1996. — V. 73. — P. 325–335.
11. Kim J. H., Joung H., Kim H. Y., Lim Y. P. Estimation of genetic variation and relationship in potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars using AFLP markers // *Am. J. Potato Res.* — 1998. — V. 75. — P. 107–112.
12. Milborne D., Meyer R., Bradshaw E. J., et al. Comparison of PCA-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato // *Mol. Breed.* — 1997. — V. 3. — P. 127–136.
13. Milborn D., Meyer R. C., Collins A. J., et al. Isolation, characterization and mapping of simple sequence repeat loci in potato // *Mol. Gen. Genet.* — 1998. — V. 259. — P. 233–245.
14. Provan J., Powell W., Devar H., et al. An extreme cytoplasmic bottleneck in the modern European cultivated potato (*Solanum tuberosum*) is not reflected in decreased levels of nuclear diversity // *Proc. R. Soc. Lond.* — 1999. — V. 266. — P. 633–639.
15. Provan J., Powell W., Waugh R. Microsatellite analysis of relationship within cultivated potato (*Solanum tuberosum*) // *Theor. Appl. Genet.* — 1996. — V. 92. — P. 1078–1084.
16. Raker C. M., Spooner D. M. Chilean tetraploid cultivated potato, *Solanum tuberosum*, is distinct from the Andean population: microsatellite data // *Crop Sci.* — 2002. — V. 42. — P. 1451–1458.
17. Sneath P. H. A., Sokal R. P. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. — San Francisco: W. H. Freeman and Co., 1973.
18. STATISTICA (data analysis software system), version 6.0 // StatSoft, Inc. — 2001. www.statsoft.com.
19. Sun G., Wang-Pruski G., Mayich M., Jong H. RAPD and pedigree-based genetic diversity estimates in cultivated diploid potato hybrids // *Theor. Appl. Genet.* — 2003. — V. 107. — P. 110–115.
20. Veilleux R. E., Shen L. Y., Paz M. M. Analysis of the genetic composition of anther-derived potato by randomly amplified polymorphic DNA and simple sequence repeats // *Genome.* — 1995. — V. 38. — P. 1153–1162.
21. Ward J. H. Jr. Hierarchical grouping to optimize an objective function // *J. Am. Stat. Assoc.* — 1963. — V. 58. — P. 236–244 (цит. по Дюран Б., Одделл П. Кластерный анализ. — М.: Статистика, 1977. — 128с.).
22. Wienand U., Feix Y. Zein specific restriction enzyme fragments of maize DNA // *FEBS Lett.* — 1980. — V. 116. — P. 14–16.

Гавриленко Т. А., докт. биол. наук; Костина Л. И., докт. биол. наук; Мальшев Л. Л., канд. биол. наук; Антонова О. Ю., научн. сотр.; Швачко Н. А., аспирант; Всероссийский НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова