

УДК 577.2:631[633.111:664.64.016.8]

ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЇ СОРТІВ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ ЗА АГРОНОМІЧНИМИ ОЗНАКАМИ І МОРФОМЕТРИЧНИМИ ПАРАМЕТРАМИ ЗЕРНА ТА ЗА АЛЕЛЬНИМ СКЛАДОМ МІКРОСАТЕЛІТНИХ ЛОКУСІВ

© 2015 р. О. О. Колесник, С. В. Чеботар,
О. М. Хохлов, В. І. Файт

Селекційно-генетичний інститут –
Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення
Національної академії аграрних наук України
(Одеса, Україна)

49 сортів пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.) селекції Селекційно-генетичного інституту – Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення (СГІ – НЦНС) були диференційовані та ідентифіковані за алельним складом 17 мікросателітних локусів та за низкою агрономічних ознак й морфометричними параметрами зерна, оціненими за їх цифровим зображенням. Для кластеризації досліджених близькоспоріднених сортів на основі генетичної схожості розраховували генетичні дистанції й проводили кластерний аналіз за допомогою програм MEGA та SimFit. На побудованій за молекулярними маркерами дендрограмі кожен сорт, як гомогенний, так і гетерогенний, диференційований, ідентифікований і представлений набором п'яти складових ліній. За результатами кластерного аналізу за агрономічними ознаками й морфометричними параметрами зерна сорти розділилися на чотири великих кластери, від яких найбільше відрізнявся сорт Запорука, створений із залученням пшениці ярої Olesen's Dwarf із Замбії. Мантель тест, що був виконаний для визначення ступеня подібності дендрограм, показав повну відсутність відповідності між двома методами диференціації сортів пшениці м'якої озимої.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., агрономічні ознаки, морфометричні параметри зерна, сортовивчення, мікросателітні локуси

Нині існує велика потреба впровадження нових універсальних підходів для ідентифікації й диференціації сортів сільськогосподарських культур. Найвагомим доказовим аргументом, який може захистити інтелектуальну власність на сорти рослин, є визначення алельних характеристик генотипів за допомогою методів молекулярної генетики, що сприятиме правовому захисту сучасних українських сортів за кордоном.

Асортимент молекулярно-генетичних маркерів, що застосовуються для вивчення сортового різноманіття генофонду сільськогосподарських культур, зазнає помітних змін. Так, дос-

лідження електрофоретичного поліморфізму білків, який відбиває несинонімічні заміни в кодуючих послідовностях, що призводять до істотної зміни електричного заряду білкової молекули – продукту конкретного гена, в наш час відтісняють методи детекції молекулярно-генетичного поліморфізму на рівні ДНК. Стрімкий розвиток ДНК-технологій – відкриває широкі можливості використання ДНК-маркерів при оцінці генетичної мінливості, ідентифікації й диференціації сортів. Молекулярні ДНК-маркери, що асоціативно пов'язані з генами, які відповідають за господарсько-цінні ознаки рослин, дозволяють достовірно проводити відбір на рівні індивідуальної рослини або селекційної лінії (Röder et al., 2002; Mir et al., 2012; Chang et al., 2013). Таким чином, зростає роль ДНК-технологій в прискоренні процесу селекції, охороні авторських прав селекціонерів

Адреса для кореспонденції: Колесник Ольга Олександрівна, Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення НААН України, Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна;
e-mail: emerald-olga@ukr.net

ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЇ

(Kolesnyk et al., 2013; Matthies et al., 2014; Zanke et al., 2014).

Нині мікросателітний аналіз (МС-аналіз) широко використовується в селекції рослин і геномних дослідженнях. Він є основою картування генів і локусів кількісних ознак (Quantitative trait loci, QTLs), визначення філогенетичних зв'язків і порівняльної геноміки (Somers et al., 2004; Balfourier et al., 2007; Landjeva et al., 2007; Hayden et al., 2008). Міжнародною організацією UPOV (Union pour la Protection des Obtentions Végétales – Міжнародний союз захисту нових сортів рослин) на 44 сесії (UPOV/INF/17/1, 2010) запропоновано використання молекулярних маркерів, а саме рекомендованого набору з восьми МС-маркерів для диференціації сортів пшениці. Так, у 2013 році UPOV розроблено таку схему застосування мікросателітних (МС) маркерів (UPOV/TGP/15, 2013):

1. Сорт-кандидат приймається до офісу, де проводиться тестування. Потім його аналізують, використовуючи набір з восьми узгоджених МС-локусів, які мають різну хромосомну локалізацію в геномі пшениці.

2. Отриманий профіль ДНК застосовують для визначення того, чи сорт-кандидат явно відрізняється від загальновідомих сортів, та/або визначення близьких/ідентичних до нього сортів.

3. Якщо сорт-кандидат можна чітко розрізнити за допомогою набору з восьми узгоджених МС-маркерів, вважається, що це відмінний сорт. За основу критерію для розрізнення сортів може служити різниця у алельному складі хоча б за одним МС-локусом, за яким сорт-кандидат і референсний сорт є досить однорідними. Проте і більш суворі вимоги (наприклад, різні алелі у більш ніж одному МС-локусі, тобто відмінності за більш ніж одним маркером) можуть бути використані.

4. Сорти-кандидати, які не є достатньо однорідними за будь-яким з восьми узгоджених МС-локусів, не проходять подальші випробування і не будуть захищені.

5. Якщо сорт-кандидат не може бути чітко відокремлений від інших загальновідомих сортів, тоді сорти, від яких він не відрізняється (відповідно до узгодженого критерію) вибирають для включення в польових випробуваннях.

6. Процес повторюється для всіх сортів-кандидатів, і польові випробування плануються таким чином, щоб подібні між собою сорти випробувалися близько один до одного з тим, щоб

полегшити порівняння між найбільш подібними групами сортів-кандидатів/референсних сортів. При плануванні можна також використовувати інформацію, отриману від оригінатора сорту з технічної анкети (TQ).

7. Всі сорти-кандидати висівають у польових випробуваннях, щоб перевірити однорідність і стабільність релевантних, немолекулярних характеристик.

8. Опис сорту буде складатися з профілю ДНК та із отриманих характеристик польових випробувань.

Аналіз МС-локусів уже використовується в Україні для оцінки генетичної різноманітності українських сортів пшениці озимої, а також з метою моніторингу спрямованості селекційних процесів, що відбуваються на молекулярному рівні в генофонді вітчизняних сортів (Чеботар, 2011). Також UPOV обговорені можливості використання молекулярних геноспецифічних маркерів, що безпосередньо і статистично надійно пов'язані з традиційними фенотипічними ознаками рослин, які не можуть бути візуально оцінені в полі або ж їх оцінка потребує проведення додаткових спеціальних заходів (наприклад, ознаки стійкості до хвороб) (UPOV/INF/18/1, 2011). Щодо калібрування порогових рівнів чутливості для молекулярних ознак проти мінімальних дистанцій в традиційних фенотипічних ознаках та появи небезпеки однаково ймовірно різних рішень про відмінність сорту за цими двома групами показників, через відсутність чіткого зв'язку між дистанціями за молекулярними маркерами та фенотипічними ознаками (Сиволап, Кожухова, 2011), запропоновано пари сортів, які не відрізняються за фенотипічними ознаками, розглядати на відмінність за молекулярними маркерами (UPOV/INF/18/1, 2011).

За дослідженнями, проведеними у СГП – НЦНС (Литвиненко, Ванін, 2001; Колесник та ін., 2009), більшість вітчизняних сортів самозапильних культур належала до гетерогенних і була непридатною для правового захисту за кордоном відповідно до положень тесту UPOV для оцінки сортів на відмінність, однорідність, стабільність (ВОС-тест). Недостатня захищеність вітчизняних сортів може спровокувати їх «запозичення» як з боку конкурентів в Україні, так і за її межами, в результаті чого СГП може зазнати значних збитків. Тому підвищення ступеня правової захищеності сортів є надзвичайно актуальним завданням.

Загалом впровадження молекулярних маркерів в систему сортозв'язування з метою ство-

рення сортів лінійного типу та добору генотипів пшениці з певними властивостями підвищить ефективність вітчизняної селекції й сприятиме надійному захисту авторських прав селекціонерів. Мета даної роботи полягала у диференціації та ідентифікації сортів пшениці м'якої озимої за низкою агрономічних ознак, морфометричними параметрами зерна, оціненими за їх цифровим зображенням, та у співставленні цих результатів з характеристикою досліджених сортів за МС-аналізом.

МЕТОДИКА

Матеріалом для дослідження слугував модельний набір з 49 ліній пшениці м'якої озимої (*Triticum aestivum* L.) селекції СГІ-НЦНС (Місія одеська, Господиня, Єдність, Благодарка одеська, Ліона, Скарбниця, Заможність, Подяка, Запорука, Бунчук, Куяльник, Косовиця, Пошана, Кірія, Дальницька, Оксана, Антонівка, Польовик, Заграва одеська, Литанівка, Епоха одеська, Служниця, Годувальниця, Істина одеська, Зміна, Довіра, Красень, Отаман, Голубка одеська, Борвій, Турунчук, Дюк, Княгиня Ольга, Небокрай, Хист, Пилипівка, Зорепад, Жайвір, Лебідка (1, 2), Гурт, Журавка, Доброчин, Безмежна, Ластівка, Ужинок, Ватажок, Альбатрос одеський і Безоста 1), отриманих з колекції лабораторії сортовивчення та моделювання селекційного процесу СГІ – НЦНС та виділених за схемою «колос-ряд», що сприяло досягненню генетичної однорідності матеріалу. Із сортів пшениці м'якої озимої селекції СГІ – НЦНС за 17 МС-локусами були проаналізовані: *Xgwm095-2A*, *Xgwm186-5A*, *Xgwm190-5D*, *Xgwm165/1-4A*, *Xgwm155-3A*, *Xgwm18-1B*, *Xgwm3-3D*, *Xgwm437-7D*, *Xgwm357-1A*, *Xgwm389-3B*, *Xgwm325-6D*, *Barc126-7D*, *Xgwm44-7D*, *Xwmc405-7D*, *Xtaglgap-1B*, *Xgwm408-5B*, *Xgwm577-7B*. Вказані МС-локуси були рекомендовані Південним біотехнологічним центром у рослинництві НААН України для ідентифікації та реєстрації генотипів пшениці м'якої озимої за допомогою МС-аналізу (Ідентифікація ..., 2004).

Насіння було висіяно в полі ділянками, за близьких умов середовища як демонстраційний дослід 2010 р. У 2010-2013 рр. потомство (зерно) було проаналізовано за низкою морфометричних та колориметричних характеристик оптичними методами за цифровими зображеннями зернівок. Для аналізу були також залучені результати польових оцінок скоростиглості (за датою колосіння), висоти рослин, маси 1000 зерен, характеристик кольору та величини колоса та остюків.

Комп'ютерний аналіз розмірів і пропорцій зернівок проводили, вимірюючи по 100 зернівок кожного сорту, за допомогою комп'ютерної програми ImageJ 1.49h (National Institute of Health, США). Зерна сканували на приладі HP 3570c, зображення знімали на темному фоні, з розділенням 200 dpi (пікселів/дюйм), як рекомендовано (Цевма, Хохлов, 2007). Програма використовує автоматичний пошук і морфометричний аналіз окремих об'єктів на цифровому знімку (Хохлов, 2009). Виконавши попередньо калібрування за стандартними об'єктами, можна отримати результати безпосередньо у «натуральних» одиницях розміру (Коруняк та ін., 2011). Визначали такі параметри зернівки, як: площа проекції зернівки на площину, довжина та ширина, периметр, округлість зерна, інтенсивність кольору. Показник округлості зерна (C_3) визначали за формулою:

$$C_3 = 400\pi \times S_3/P_3^2 \quad (1),$$

де S_3 – площа проекції зерна на площину, P_3 – периметр зернівки. Статистичну обробку рядів даних здійснювали у програмі Excel інструментами обчислення параметрів варіаційної статистики. Кластерний аналіз за морфометричними параметрами проводили у програмі SimFit, ver.7.0.5 Academic 32-bit (University of Manchester, Великобританія).

ДНК з проростків виділяли як рекомендовано методикою (Использование ..., 1998). Полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) з праймерами до МС-локусів проводили згідно з методичними рекомендаціями (Ідентифікація ..., 2004). Продукти ампліфікації (12 мкл аліквоти ПЛР-суміші) фракціонували у 7%- поліакриламідному гелі (ПААГ) за стандартною методикою (Röder et al., 1998). 7% ПААГ фарбували сріблом відповідно до «Silver sequence TM DNA Sequencing System Technical Manual» («Promega», США) (Маниатис и др., 1984; Technical manual, 2001). Кластерний аналіз за алейним складом МС-локусів проводили у програмі SimFit, ver.7.0.5 Academic 32-bit (University of Manchester, Великобританія) та MEGA ver.6 (Temple University, США). Для визначення ступеня подібності дендрограм, побудованих за алейним складом МС-локусів та за морфометричними й колориметричними параметрами й агрономічними ознаками, був виконаний Мантель тест за допомогою програми PASSaGE, ver. 2.0.11.6 (Arizona State University, США).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Молекулярні маркери становлять інтерес у двох основних аспектах – як ідентифікатори та диференціатори сортів та як власне маркери селекційних ознак. Спільно з лабораторією сортовивчення та моделювання селекційного процесу відділу генетичних основ селекції СГІ – НЦНС з 2010 року проведено низку досліджень із залученням МС-аналізу. Дослідження алейного складу 49 сортів пшениці озимої м'якої СГІ-НЦНС показало, що для їх однозначної ідентифікації та диференціації достатньо обрати 7-8 найбільш інформативних МС-локусів (Kolesnyuk et al., 2013). Також було відібрано 35-36 сортів, що могли б скласти колекцію сортів-еталонів, носіїв усіх алелів, притаманних сортам СГІ – НЦНС.

Для кластеризації досліджених сортів на основі генетичної схожості розраховували генетичні дистанції й проводили кластерний аналіз за допомогою програм MEGA та SimFit. Так, при врахуванні алейного складу усіх 17 локусів кластерним аналізом було побудовано надзвичайно показову дендрограму, на якій кожен сорт, як гомогенний, так і гетерогенний, – представлений компактним набором п'яти складових ліній (рис. 1). Це свідчить про спроможність системи вирізнити складові лінії одного сорту в єдину гілку і, таким чином, відрізнити його від інших близькоспоріднених сортів, що були створені у тому ж селекційному центрі за ідентичних умов середовища та вирощування.

Із 2010 по 2013 рр. одну із п'яти досліджених за кожним сортом ліній висівали за

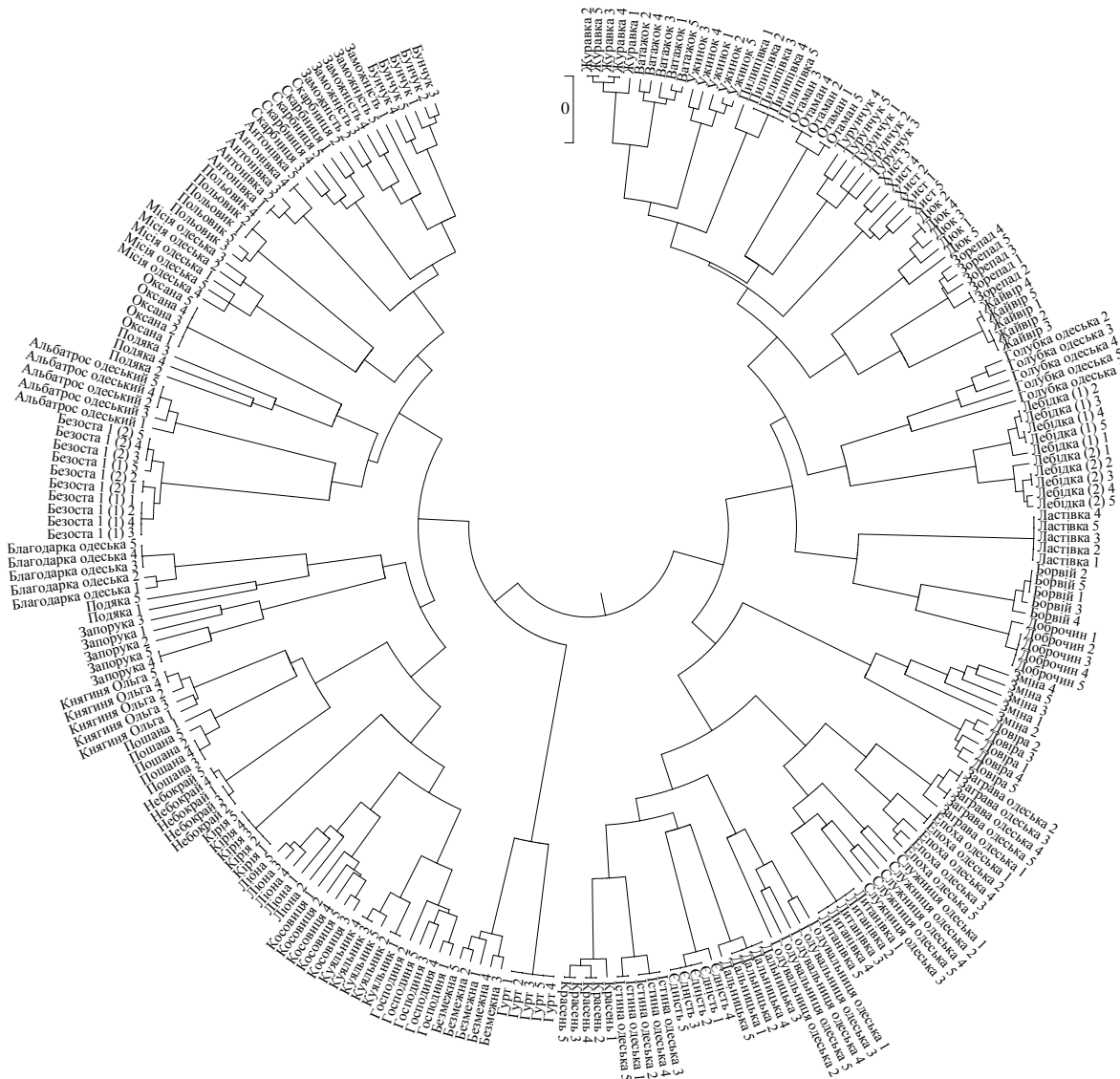


Рис. 1. Кластерний аналіз ліній, виділених із сортів пшениці озимої м'якої відділу селекції та насінництва пшениці СГІ – НЦНС, за даними алейного складу 17 МС-локусів

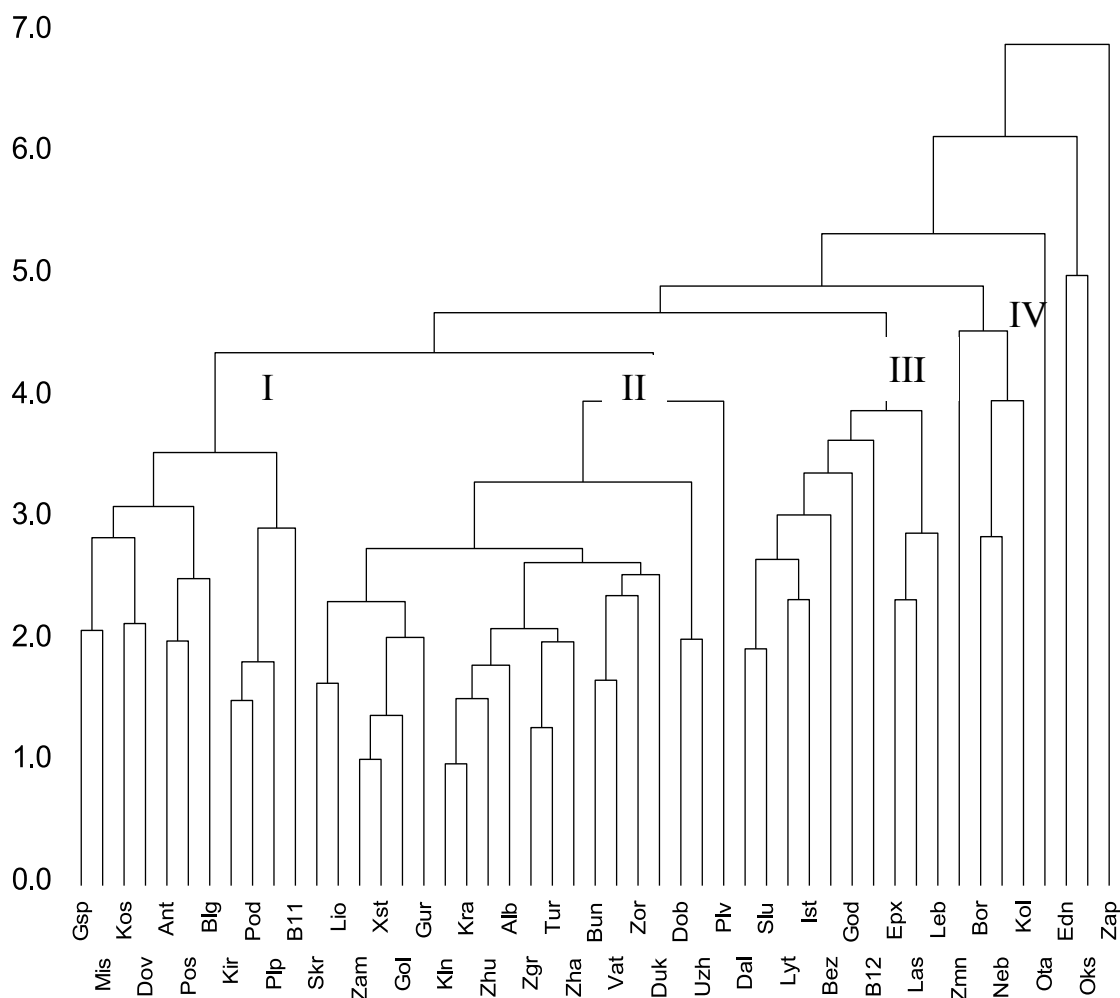


Рис. 2. Кластерний аналіз сортів пшениці озимої м'якої СГІ – НЦНС за сукупністю 12 агрономічних ознак й морфометричними параметрами зерна.

Gsp – Господиня, Mis – Місія одеська, Kos – Косовиця, Dov – Довіра, Ant – Антонівка, Pos – Пошана, Blg – Благодарка одеська, Kir – Кірія, Pod – Подяка, Plp – Пилипівка, B11 – Безоста 1 (1), Skr – Скарбниця, Lio – Ліона, Zam – Заможність, Xst – Хист, Gol – Голубка одеська, Gur – Гурт, Kln – Куяльник, Kra – Красень, Zhu – Журавка, Alb – Альбатрос одеський, Zgr – Заграва одеська, Tur – Турунчук, Zha – Жайвір, Bun – Бунчук, Vat – Ватажок, Zor – Зорепад, Duk – Дюк, Dob – Доброчин, Uzh – Ужинок, Plv – Польовик, Dal – Дальницька, Slu – Служниця, Lyt – Литанівка, Ist – Істина одеська, Bez – Безмежна, God – Годувальниця, B12 – Безоста 1 (2), Epx – Епоха одеська, Las – Ластівка, Leb – Лебідка, Zmn – Зміна, Bor – Борвій, Neb – Небокрай, Kol – Княгиня Ольга, Ota – Отаман, Edn – Єдність, Oks – Оксана, Zap – Запорука.

схемою колос-ряд. У цих ліній щороку визначали низку агрономічних ознак та морфометричні параметри зерна. Результати кластерного аналізу за ознаками висоти рослин, маси 1000 зерен, дати колосіння, величини та кольору колоса, величини остюків, площі проекції зернівки на площину, периметра зернівки, довжини та ширини зернівки, округлості зернівки, інтенсивності кольору зернівки (середні за 3-4 роки) наведені на рис. 2. Загалом сорти розділилися

на чотири великі кластери (для порогу 4-5 од.). Слід зазначити, що три субкластери кластера II, а саме сорти Бунчук – Польовик (*Bun-Plv* на рис. 2) містять тільки сорти, створені групою зав. лабораторії селекції інтенсивних сортів пшениці акад. С.П. Лифенка.

Два субкластери кластера III, а саме сорти Істина одеська – Лебідка одеська (*Ist-Leb*) включають сорти групи зав. відділу селекції та

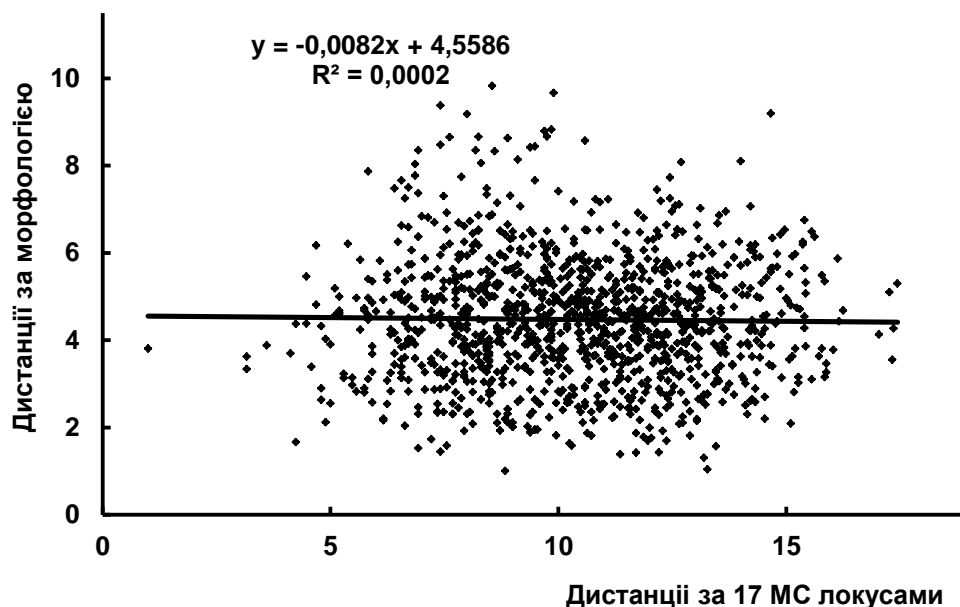


Рис. 3. Кореляція міжсортних дистанцій, оцінених за молекулярними маркерами та морфологічними ознаками

По осі абсцис відображені дистанції за 17 МС-локусами; по осі ординат – дистанції за агрономічними ознаками й морфометричними параметрами зерна; рівняння лінії тренда: $y = -0,0082 \cdot x + 4,5586$; $R^2 = 0,0002$, де R^2 – коефіцієнт детермінації.

насінництва пшениці акад. М.А. Литвиненка, а також одну з ліній сорту Безоста 1.

Сорт пшениці м'язерної Оксана, створений групою зав. відділу генетичних основ селекції д.б.н. О.І. Рибалки, фактично являє собою окремий кластер, найближчим до якого є сорт Єдність. Слід зазначити, що показник твердозерності не входив до 12 ознак, за якими проводили кластерний аналіз.

Найбільше відрізнявся від решти сорт Запорука (дистанція 7 од.). Цей сорт створений від селекційної лінії Еритроспермум 3026/2000 {Еритроспермум 1276/86 [(Olesen's Dwarf × Одеська 16) × Обрій] × Одом} × Одеська 132. У свою чергу, сорт Обрій, що входить до родоводу сорту Запорука, має родовід: Red River 68 × Одеська 51. Наявність пшениці ярої Olesen's Dwarf із Замбії в родоводі сорту Запорука, а також високий рівень гетерогенності цього сорту за результатами МС-аналізу можуть пояснити його окреме розташування на дендрограмі. (рис. 2).

Значною мірою інформація, отримана двома групами методів, є незалежною, тобто з точки зору характеристики та опису матеріалу молекулярні та традиційні методи опису за морфологічними ознаками доповнюють одне одного.

Для визначення ступеня подібності дендрограм, побудованих за молекулярними маркерами та морфологічними ознаками, порівнювали між собою відповідні матриці відстаней (Мантель тест). Для коректності порівнянь із п'яти проаналізованих за МС-локусами ліній (п'ять за кожним сортом) в аналіз брали лише дані, які стосувалися ліній, оцінених за морфологією (одна за кожним сортом). Результати показали повну відсутність відповідності між двома методами диференціації сортів пшениці м'якої озимої (рис. 3), хоча помірні кореляції були знайдені деякими дослідниками (Kwon et al., 2005). На наш погляд, пояснення полягає у різній генетичній організації ознак, адже відомо, що більшість морфологічних ознак є полігенними. Крім того, характеристика за алейним складом МС-локусів є кількісною, тоді як за морфологією може бути як якісною, так і кількісною. Ще одна причина може полягати у відносній близькості характеристик досліджуваних сортів. Наявність кореляцій (хоча і слабких) зафіксована у роботах, виконаних на колекціях із широким діапазоном властивостей. Так, у роботі Kwon et al. (2005) вигляд кореляційного поля свідчить про наявність серед досліджених 66 сортів перцю трьох великих груп, в межах кожної з них кореляція була відсутня. Автори відзначають вузьке різноманіття серед

комерційних сортів, що займають основні площі під цією культурою.

На основі отриманих експериментальних даних розпочато пошук шляхів оптимізації систем сортовивчення, що базуються на використанні маркерів різного типу, у першу чергу молекулярних. Основні напрями пошуку включають оптимізацію складу маркерів, добір колекцій сортів-еталонів, розробку комп'ютеризованих систем аналізу даних.

Таким чином, 49 сортів пшениці м'якої озимої відділу селекції та насінництва пшениці СГІ – НЦНС диференційовані та ідентифіковані за низкою агрономічних ознак, морфометричними параметрами зерна, оціненими за їх цифровим зображенням, та за аналізом 17 МС-локусів. Мантель тест, що був виконаний для визначення ступеня подібності дендрограм, побудованих за молекулярними маркерами та агрономічними ознаками і морфометричними параметрами зерна, показав повну відсутність відповідності між двома методами диференціації сортів озимої м'якої пшениці. Пояснення можуть полягати у різній генетичній організації ознак, а також у відносній близькості характеристик досліджуваних сортів.

ЛІТЕРАТУРА

- Ідентифікація і реєстрація генотипів м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.), ячменю (*Hordeum vulgare* L.), кукурудзи (*Zea mays* L.), соняшника (*Helianthus annuus* L.) за допомогою аналізу мікросателітних локусів: Методичні рекомендації / Південний біотехнологічний центр у рослинництві. – Одеса, 2004. – 14 с.*
- Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: Научно-методическое руководство / Под ред. Ю.М. Сиволапа. – Киев: Аграрна Наука, 1998. – 159 с.*
- Колесник О.О., Чеботар С.В., Хохлов О.М., Сиволап Ю.М.* Диференційна здатність методів ідентифікації сортів пшениці за допомогою мікросателітного аналізу та комп'ютерного визначення морфометричних параметрів зерна // *Вісн. Одеського нац. ун-ту ім. І.І. Мечникова. Сер. Біологія.* – 2009. – Т. 14, Вип. 8. – С. 27-42.
- Коруняк О.П., Цевма В.М., Хохлов О.М.* Морфометрична та колориметрична характеристика зерен ячменю за їхніми цифровими зображеннями // *Зб. наук. праць СГІ.* – 2011. – № 17 (57). – С. 143-150.
- Литвиненко М.А., Ванін В.А.* Результати оцінки вітчизняних сортів озимої м'якої пшениці за DUS-тестом // *Аграрний вісник Причорномор'я.* – 2001. – Вип. 12. – С. 91-98.
- Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж.* Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. – Москва: Мир, 1984. – 480 с.
- Сиволап Ю.М., Кожухова Н.Э.* Молекулярные маркеры и тестирование сортов растений на отличимость, однородность и стабильность: состояние проблемы // *Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів.* – 2011. – Т. 9, № 1. – С. 147-154.
- Хохлов О.М.* Застосування програми аналізу зображень ImageJ в дослідженнях об'єктів сортовивчення // *Виноградарство і виноробство. Міжвідомчий тематичний науковий збірник.* – Спец. випуск. – Одеса. – 2009. – С. 179-185.
- Цевма В.М., Хохлов О.М.* Інструментальне визначення сортоспецифічних характеристик кольору зерна пшениці // *Зб. наук. праць СГІ.* – 2007. – Вип. 10 (50). – С. 116-135.
- Чеботар С.В.* Молекулярно-генетичний поліморфізм українських сортів озимої м'якої пшениці // *Зб. наук. праць СГІ – НЦНС.* – 2011. – Вип. 17 (57). – С. 17-29.
- Balfourier F.A., Roussel V., Strelchenko P., Exbrayat-Vinson F., Sourdille P., Boutet G., Koenig J., Ravel C., Mitrofanova O., Beckert M., Charmet G.* Worldwide bread wheat core collection arrayed in a 384-well plate // *Theor. Appl. Genet.* – 2007. – V. 114, № 7. – P. 1265-1275.
- Chang J., Zhang J., Mao X., Li A., Jia J., Jing R.* Polymorphism of TaSAP1-A1 and its association with agronomic traits in wheat // *Planta.* – 2013. – V. 237, № 6. – P. 1495-1508.
- Hayden M.J., Nguyen T.M., Waterman A.* Application of multiplex-ready PCR for fluorescence-based SSR genotyping in barley and wheat // *Mol. Breed.* – 2008. – V. 21, № 3. – P. 271-281.
- Kolesnyk O.O., Chebotar S.V., Sivolap Yu.M., Tsevma V.M., Khokhlov O.M., Litvinenko M.A.* The courses of nurseries control and variety investigation systems founded on molecular markers // *Зб. наук. праць СГІ – НЦНС.* – 2013. – Вип. 22 (62). – С. 89-99.
- Kwon Y.S., Lee J.M., Yi G.B., Yi S.I., Kim K.M., Soh E.H., Bae K.M., Park E.K., Song I.H., Kim B.D.* Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties // *Mol. Cells.* – 2005. – V. 19. – P. 428-435.
- Landjeva S., Korzun V., Börner A.* Molecular markers: actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding // *Euphytica.* – 2007. – V. 156, № 8. – P. 271-296.
- Matthies I.E., Malosetti M., Röder M.S., Eeuwijk F.* Genome-wide association mapping for kernel and malting quality traits using historical european barley records // *PLOS ONE.* – 2014. – V. 9, № 11. – doi:10.1371/journal.pone.0110046.

ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЇ

- Mir R., Kumar N., Jaiswal V., Girdharwal N., Prasad M., Balyan H.S., Gupta P.K. Genetic dissection of grain weight in bread wheat through quantitative trait locus interval and association mapping // *Mol. Breed.* – 2012. – V. 29, № 4. – P. 963-972.
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. A Microsatellite map of wheat // *Genetics.* – 1998. – № 149. – P. 2007-2023.
- Röder M.S., Wendehake K., Korzun V., Bredemeijer G., Laborie D., Bertrand L., Isaac P., Rendell S., Jackson J., Cooke R.J., Vosman B., Ganal M.W. Construction and analysis of a microsatellite-based database for European wheat cultivars // *Theor. Appl. Genet.* – 2002. – V. 106, № 1. – P. 67-73.
- Somers D.J., Isaac P., Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Theor. Appl. Genet.* – 2004. – V. 109, № 6. – P. 1105-1114.
- Technical manual. GenePrint® STR Systems (Silver Stain Detection). Promega Corporation, 2001. – 47 p.
- UPOV. Guidelines for DNA-profiling: molecular marker selection and database construction (“BMT guidelines”). – UPOV/INF/17/1. – 2010-10-21.
- UPOV. Possible use of molecular markers in the examination of distinctness, uniformity and stability (DUS). – UPOV/INF/18/1. – 2011-10-20.
- UPOV. Guidance on the Use of Biochemical and Molecular Markers in the Examination of Distinctness, Uniformity and Stability (DUS). – UPOV/ TGP/15. – 2013-11-20.
- Zanke C., Ling J., Plieske J., Kollers S., Ebmeyer E., Korzun V., Argillier O., Stiewe G., Hinze M., Beier S., Ganal M.W., Röder M.S. Genetic architecture of main effect QTL for heading date in European winter wheat // *Frontiers in Plant Science / Plant Genetics and Genomics.* – 2014. – V. 5, A. 217. – doi: 10.3389/fpls.2014.00217.

Надійшла до редакції
18.01.2015 р.

COMPARISON OF IDENTIFICATION AND DIFFERENTIATION METHODS FOR BREAD WINTER WHEAT VARIETIES ACCORDING TO NUMBER OF AGRONOMIC TRAITS AND MORPHOMETRIC PARAMETERS OF GRAINS AND ALLELIC COMPOSITION OF MICROSATELLITE LOCI

O. O. Kolesnyk, S. V. Chebotar, O. M. Khokhlov, V. I. Fayt

*Plant Breeding and Genetics Institute –
National Center of Seed and Cultivar Investigations
National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
(Odesa, Ukraine)
e-mail: emerald-olga@ukr.net*

49 bread wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) originated by the Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigations were differentiated and identified according to the allelic composition of 17 microsatellite loci and a number of agronomic traits and morphometric parameters of grains evaluated with the help of kernel digital images. For the clustering of studied closely related varieties basing on their genetic similarity there were calculated genetic distances and cluster analysis was performed using MEGA software and SimFit. In the constructed by the molecular markers dendrogram each variety both homogeneous and heterogeneous, was differentiated, identified, and presented as a set of five component lines. As a result of cluster analysis by a number of agronomic traits and morphometric parameters of grains varieties were divided into 4 large clusters, from which variety Zaporuka, created with the assistance of spring wheat Olesen's Dwarf from Zambia, differed mostly. Mantel test performed to determine the degree of dendrogram similarity showed a complete lack of conformity between two methods of differentiation of wheat varieties.

Key words: *Triticum aestivum* L., agronomic traits, morphometric parameters of grains, variety investigation, microsatellite loci

ПОРІВНЯННЯ МЕТОДІВ ДИФЕРЕНЦІАЦІЇ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЇ

СОПОСТАВЛЕНИЕ МЕТОДОВ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ И ИДЕНТИФИКАЦИИ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ ПО АГРОНОМИЧЕСКИМ ПРИЗНАКАМ И МОРФОМЕТРИЧЕСКИМ ПАРАМЕТРАМ ЗЕРНА И ПО АЛЛЕЛЬНОМУ СОСТАВУ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ

О. А. Колесник, С. В. Чеботарь, А. Н. Хохлов, В. И. Файт

*Селекционно-генетический институт –
Национальный центр семеноводства и сортоизучения
Национальной академии аграрных наук Украины
(Одесса, Украина)
e-mail: emerald-olga@ukr.net*

49 сортов пшеницы мягкой озимой (*Triticum aestivum* L.) селекции Селекционно-генетического института – Национального центра семеноводства и сортоизучения (СГИ – НЦНС) были дифференцированы и идентифицированы по данным аллельного состава 17 микросателлитных локусов и по ряду агрономических признаков и морфометрическим параметрам зерна, оцененным по их цифровым изображениям. Для кластеризации исследованных близкородственных сортов на основе генетического сходства рассчитывали генетические дистанции и проводили кластерный анализ с помощью программ MEGA и SimFit. На построенной по молекулярным маркерам дендрограмме каждый сорт, как гомогенный, так и гетерогенный, дифференцирован, идентифицирован, и представлен набором пяти составляющих линий. По результатам кластерного анализа по агрономическим признакам и морфометрическим параметрам зерна сорта разделились на четыре больших кластера, от которых больше всего отличался сорт Запорука, созданный с привлечением пшеницы ярой Olesen's Dwarf из Замбии. Мантель тест, который был выполнен для определения степени подобия дендрограмм, показал полное отсутствие соответствия между двумя методами дифференциации сортов пшеницы мягкой озимой.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., агрономические признаки, морфометрические параметры зерна, сортоизучение, микросателлитные локусы