

на ранних стадиях перспективные образцы для селекции кормового либо пивоваренного ячменя. Использование молекулярного маркера интрона III β -Amy1 позволяет селекционировать растения по качеству солода на стадии ранних гибридных поколений.

Работа выполнялась в рамках ГПОФИ «Селекция, семеноводство и генетика 06» «Оценка молекулярно-генетического разнообразия сортов и селекционного материала ячменя (*Hordeum vulgare* L.) в целях оптимизации селекционного процесса ячменя в условиях Беларуси».

1. M. Kreis, M. Williamson, P. R. Shewry, P. Sharp, and M. Gale, Identification of a second locus encoding b-amylase on chromosome 2 of barley // Genet. Res. Cambr.-1988. - V.51.-P. 13—16.
2. M. Paris, M.G.K. Jones, J.K. Eglinton, Genotyping single nucleotide polymorphisms for selection of barley b-amylase alleles // Plant Mol. Biol. Rep. - 2002. – V. 20. – P.149–159.
3. E. Chiapparino, P. Donini, J. Reeves, R. Tuberosa, D. M. O'Sullivan, Distribution of b-amylase I haplotypes among European cultivated barleys // Mol. Breeding. - 2006. – V. – 18. – P. - 341–354.
4. M. Erkkila, Intron III-Specific Markers for Screening of β -amylase Alleles in Barley Cultivars // Plant Mol. Biol. Rep. - 1999. - V.17. - P.139-147.

ПОЛИМОРФИЗМ *DESCHAMPSIA ANTARCTICA* ПРИМОРСКОЙ АНТАРКТИДЫ ПО РЕЗУЛЬТАТАМ RAPD-АНАЛИЗА

Д.Н. Майданюк^{1,2}, Д.М. Адноф¹, И.О. Андреев¹, Е.В. Спиридонова¹, И.Ю. Парникоза³,
И.А. Козерецкая³, В.А. Кунах¹

¹ - Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, Киев, Украина

² - Луганский национальный аграрный университет, Луганск, Украина

³ - Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко, Киев, Украина

redmaidan@gmail.com

Флора цветковых растений Антарктиды представлена всего двумя видами: *Deschampsia antarctica* Desv. и *Colobanthus quitensis* (Kunth) Bartl. [1]. Ранее нами было показано, что в условиях различных районов Приморской Антарктиды растения *D. antarctica* произрастают на почвах различного химического состава, инфицируются рядом вирусов, а также характеризуются значительной изменчивостью по содержанию ДНК в ядре и размерам ядрышка клеток паренхимы и эпидермы листка [2]. Целью данной работы была оценка генетической гетерогенности данного вида в двух регионах Приморской Антарктиды методом RAPD-анализа.

Изучено пятнадцать экземпляров *D. antarctica* из точек, расположенных в районе Аргентинских островов: о. Галиндез (2 точки), о. Большой Ялур (2), о. Питерманн (1), о. Бертелот (2), о. Уругвай (1), мыс Расмуссен (1), а также о. Ватерлоо (Кинг-Джордж), расположенного на 430 км севернее (арх. Южные Шетландские о-ва) (6 точек). RAPD-анализ проводили с использованием тридцати случайных десятинуклеотидных праймеров.

В RAPD-спектрах изученных объектов обнаружен значительный полиморфизм. Полиморфными оказались 47,4% учтенных ампликонов. При этом генетические дистанции по Нею [3] между растениями из отдельных точек составили от 0,0695 до 0,1280. Построенная по результатам анализа дендрограмма не обнаружила группировки исследованных объектов в кластеры в связи с их географическим расположением (рисунок). В целом результаты проведенного RAPD-анализа свидетельствуют о сопоставимости генетической гетерогенности растений, взятых с одного острова, и растений с различных островов.

Результаты проводившихся ранее исследований генетического полиморфизма растений *D. antarctica* Приморской Антарктиды достаточно противоречивы. В одной из работ AFLP-анализ растений *D. antarctica* из популяций о. Сигни на севере и отдаленной примерно на 1350 км группы из трех близлежащих островов Леон на юге Приморской Антарктиды,

обнаружил сравнительно низкий уровень внутривидового генетического полиморфизма (16 %) и весьма существенный уровень отличий между отдельными популяциями (89 % для о. Сигни и 45 % для популяций группы островов южной части Приморской Антарктиды), при этом уровень различий между популяциями северного острова и группы островов на юге составил всего 47% [1]. В более поздних работах, где также применяли AFLP-анализ, значения генетического полиморфизма для популяций *D. antarctica* оказались значительно ниже. Так, в работе Van de Wouw et al. [4] значение индекса Шеннона, характеризующего генное разнообразие, для отдельных популяций Приморской Антарктики колебалось в пределах от 0,051 на юге до 0,083 на севере и 0,120 на Южных Оркнейских о-вах, а для данного региона в целом составил 0,153. Подобные результаты получены и при изучении двух морфологически отличающихся популяций о. Кинг-Джордж [5]. При изучении гетерогенности *D. antarctica* Субантарктики и Приморской Антарктиды выяснилось, что растения из района Аргентинских островов и Южных Шетландских островов в равной степени гетерогенны [6]. Результаты оценки генетического полиморфизма растений *D. antarctica* в целом сопоставимы с полученными нами данными. При этом в двух последних работах [5, 6] так же не удалось выделить четких кластеров, которые бы объединяли растения в соответствии с их географической локализацией.

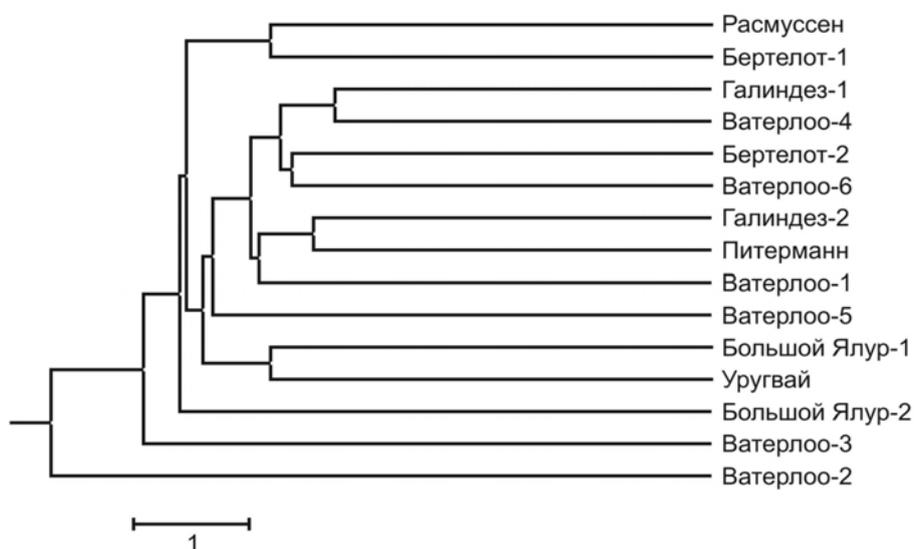


Рис. Дендрограмма генетических отношений между растениями *D. antarctica* из различных сайтов, построенная методом UPGMA на основе генетических дистанций по Нею.

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о достаточно высоком уровне генетической гетерогенности растений, произрастающих в пределах отдельно взятых островов, который сопоставим с различиями между растениями с островов архипелагов, значительно удаленных друг от друга. Объяснить данный факт в условиях отсутствия у *D. antarctica*, перемешивания генетического материала внутри отдельных популяций (вследствие клейстогамии) можно заносом на значительные расстояния семян или вегетативных частей растений, осуществляемым птицами. Кроме того, нельзя исключать также возможность постплейстоценовой реколонизации исследованных мест произрастания *D. antarctica*, т.е. широкого расселения из ограниченного количества сохранившихся после оледенения рефугиумов, изоляция которых в течение длительного времени могла способствовать формированию специфических генотипов.

1. R. Holderegger, I. Stehlic, R. I. Lewis, R.J. Smith. Abbott Population of Antarctic hairgrass (*Deschampsia antarctica*) show low genetic diversity // Arctic, Antarctic and Alpine research. – 2003. – V. 35. – P. 214–217.

2. I.Yu. Parnikoza, N.Yu. Miryuta, D.N. Maidanyuk, S.A. Loparev, S.G. Korsun, I.G. Budzanivska, T.P. Shevchenko, V.P. Polischuk, V.A. Kunakh, I.A. Kozeretska. Habitat and leaf cytogenetic characteristics of *Deschampsia antarctica* Desv. in the Maritime Antarctica // Polar Science. – 2007. – V. 1. – P. 121–128
3. M. Nei. Genetic distance between populations // American Naturalist. – 1972. – V. 106. – P. 283–292.
4. M. van de Wouw, P. van Dijk, Ad H.L. Huiskes Regional genetic diversity patterns in Antarctic hairgrass (*Deschampsia antarctica* Desv.) // J. Biogeogr. – 2008. – V.35, №2. – P.365-376.
5. K. J. Chwedorzewska, P. T. Bednarek, J. Puchalski. Molecular variations of Antarctic grass *Deschampsia antarctica* Desv. from King George Island (Antarctica) // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. – 2004. – V. 73. № 1 – P. 23–29.
6. K. J. Chwedorzewska, P. T. Bednarek. Genetic variability in the antarctic hairgrass from Maritime Antarctic and Subantarctic // Pol. J. Ecol. – 2008. – V. 56, № 2. – P. 209–216.

РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ДНК-ТИПИРОВАНИЯ ГЕНОВ *rin*, *nor* И *alc*, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЛЕЖКОСТИ ПЛОДОВ ТОМАТА

С.В. Малышев, О.Г. Бабак, Н.А. Некрашевич, А.В. Кильчевский

ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси», Минск, Беларусь

s.malyshev@igc.bas-net.by

Одним из современных направлений в селекции тепличных томатов является создание высокотранспортабельных и лёжких гибридов. Получение таких гибридов увеличивает устойчивость зрелых плодов к перезреванию, размягчению, т.е. их способность сохраняться на растении в течение длительного времени (не менее 25 дней), повышает отдачу товарного урожая, увеличивает срок поступления свежих томатов из теплиц, позволяет перевозить тепличную продукцию на дальние расстояния без потери качества.

В селекции по данному направлению большой интерес представляет использование генов *nor* (*non-ripening*), *rin* (*ripening inhibitor*), *Nr* (*never ripe*), *alc* (*alcobaca*), *gr* (*green ripe*) и др., которые в гетерозиготном состоянии значительно улучшают сохранность плодов томата на растении [1]. В настоящее время изучен характер наследования генов *nor*, *rin*, контролирующих задержку созревания плодов томата, и их взаимодействие с генами, определяющими структуру урожая, раннеспелость и лежкость [2]. Мутант *alcobaça* изучен недостаточно и менее использовался в селекции в сравнении с *rin* и *nor*. Он был отобран как ландраса в Португалии и интродуцирован в 1967 в Бразилии, где и были впервые описаны его фенотипические особенности [3].

Целью нашей работы является разработка методов ДНК-типирования генов *nor*, *rin* и *alc*, позволяющих выявлять индивидуальные аллели на ранних стадиях развития растения.

Семена томатных линий, гомозиготных по *rin* (Мо-577), *nor* (Мо-948) and *alc* (Мо-950) мутациям были получены из ВНИИССОК, Россия. Тотальную геномную ДНК экстрагировали с использованием Genomic DNA Purification Kit (Fermentas). Дизайн праймеров проводили с использованием программы Primer 3 (v. 0.4.0). PCR амплификацию выполняли на амплификаторе iCycler Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Продукты ПЦР анализировались в 1.5% агарозном геле или в 6% полиакриламидном геле с использованием ALFexpress II секвенатора.

Для прямого секвенирования продукты PCR разделяли и вырезали из 1.0 % агарозного геля, и затем очищали с использованием (GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit, Amersham Biosciences). Реакцию секвенирования проводили в соответствии с Big Dye® Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems). Продукты секвенирования очищали на колонках Centri-Sep™ (Applied Biosystems), высушивали, растворяли в 20 мкл формамида, денатурировали нагреванием до 95 °С в течении 2 мин, и затем проводили электрофорез на секвенаторе ABI PRISM™ 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems).

Для разработки аллелеспецифических маркеров к гену *rin* была использована геномная последовательность AX074057 (GeneBank) длиной 13830 п.н. Данная последовательность