

БЛЮМ Р. Я.^{1,2}, РАБОКОНЬ А. М.², ПІРКО Я. В.²¹ ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка,Україна, 03022, м. Київ, просп. Академіка Глушкова, 2, e-mail: blume.rostislav@gmail.com² Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України,Україна, 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а, e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net✉ blume.rostislav@gmail.com

ПОЛІМОРФІЗМ ДОВЖИНИ ІНТРОНІВ β -ТУБУЛІНУ У ФОРМ *var. glabra* ТА *var. laxa* ПЕКІНСЬКОЇ КАПУСТИ (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*)

Мета. Основною метою цього дослідження було визначення генетичних дистанцій у різних генотипів капусти пекінської (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) та визначення відмінностей між формами *var. glabra* та *var. laxa*. **Методи.** Проведено молекулярно генетичний аналіз генотипів пекінської капусти за допомогою методу оцінки поліморфізму довжини інтронів β -тубуліну (ТВР). **Результати.** Визначено молекулярні профілі різних генотипів пекінської капусти (*B. rapa* ssp. *pekinensis*). Кількість ампліфікованих фрагментів інтронів β -тубуліну значно варіювала: від 12 до 24 для кожного генотипу. На основі отриманих результатів було побудовано дендрограму, що відображає генетичні дистанції між дослідженими зразками. **Висновки.** В межах проведеного дослідження було проаналізовано 7 генотипів *B. rapa* ssp. *pekinensis*, отриманих із генетичних банків ІРК (Гатерслебен) та Crop Research Institute (Прага). На основі одержаних результатів було виявлено, що систематичний розподіл на форми *var. glabra* та *var. laxa* не підтверджується молекулярно-генетичними методами, зокрема ТВР, а різниця між популяціями або сортами є більш значущою.

Ключові слова: *Brassicaceae*, *Brassica rapa* ssp. *pekinensis*, ІЛР, ТВР, пекінська капуста, поліморфізм довжини інтронів β -тубуліну.

Родина Хрестоцвітих *Brassicaceae* (*Cruciferae*) охоплює велику кількість економічно важливих олійних, харчових та кормових культур. Серед них вирізняються рослини роду *Brassica*, які привертають до себе велику увагу завдяки їхній здатності витримувати достатньо низькі температури, що надзвичайно важливо для вирощування в умовах Європи та Північної Америки. Найбільш економічно значущими є: *Brassica napus* (ріпак), *B. oleracea* (капуста городня),

B. campestris (syn. *B. rapa* subsp. *oleifera*, суріпиця), *B. nigra* (чорна гірчиця), *B. carinata* (абіссинська гірчиця) and *B. juncea* (гірчиця сарептська) [1]. Водночас деякі види родини Хрестоцвітих, зокрема рижій посівний (*Camelina sativa*), мають надзвичайний потенціал як джерела олії для виробництва біопалив, а також можуть слугувати платформою для метаболічної інженерії [2–4].

Деякі культури, наприклад, капуста пекінська (*B. rapa* ssp. *pekinensis*), мають значне поширення як харчові овочеві культури. Також цей вид характеризується наявністю АА геному Хрестоцвітих, який є одним з батьківських геномів ріпака (ААСС) [5]. Раніше було з'ясовано, що *B. napus* та *B. rapa* можуть гібридизуватися природним шляхом [6–8]. Більше того, раніше нами було виявлено, що тифон (*B. rapa* ssp. *oleifera* f. *biennis* × (*B. rapa* ssp. *rapifera* × *B. rapa* ssp. *pekinensis*)) – гібрид, отриманий на основі пекінської капусти, рапіфери (руво) та суріпиці – може слугувати як цінною олійною сировиною для виробництва біопалив, так і кормовою культурою [9–12]. Тому оцінка поліморфізму *B. rapa* ssp. *pekinensis* з різноманітних популяцій є важливою науковою задачею, що дозволить оцінити наявні генетичні ресурси названої культури. З цією метою нами був використаний метод оцінки поліморфізму довжини інтронів β -тубуліну (Tubulin-Based Polymorphism, ТВР). Цей метод ґрунтується на тому факті, що через надзвичайно важливу функцію β -тубуліну послідовності екзонів його генів є досить консервативними в усіх еукаріотичних організмів, на відміну від більш варіабельних інтронів [13, 14]. Цей метод виявив свою придатність до застосування на різних родинах рослин [15]. Саме тому в цьому дослідженні нами було здійснено генетичних ресурсів *B. rapa* ssp. *pekinensis* за допомогою методу ТВР.

© БЛЮМ Р. Я., РАБОКОНЬ А. М., ПІРКО Я. В.

Матеріали і методи

Для досліджень було використано насіння різних генотипів пекінської капусти (*B. rapa ssp. pekinensis*), отриманих з Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (ІПК) (Гатерслебен, Німеччина) та з Crop Research Institute (Прага, Чеська Республіка). Назви та систематичне положення використаних у дослідженні генотипів наведені у табл. 1.

ПЛР проводили за допомогою ампліфікатора Thermal Cycler 2720 («Applied Biosystems», США). Реакційна суміш (об'ємом 10 мкл) була взята з набору Phire Plant Direct PCR Master Mix (Thermo Scientific, США), після чого в суміш вносили рослинний матеріал (шматок листка з проростка насінини). Ампліфікацію проводили відповідно до такого протоколу: початкова денатурація (94°C) – 3 хв, 40 циклів ампліфікації (денатурація 94°C – 30 с, відпал праймерів 55°C – 40 с, елонгація 72 °C – 1,5 хв), завершальна елонгація 72°C – 8 хв, 15°C – утримання [13]. Продукти ампліфікації розділяли за допомогою електрофорезу в 6 %-ному неденатуруючому поліакриламідному гелі в 1x TBE-буфері [16] з подальшим фарбуванням нітратом срібла [17]. Цифрові фотографії гелів аналізували з використанням програми Gel Analyzer (gelanalyzer.software.informer.com/1.0/). Розмір відтворюваних і найбільш чітких фрагментів визначали, використовуючи ДНК-маркер (O'Gene Ruler™ 100bp Plus DNA Ladder, ready-to-use; «Fermentas», Литва). Рівень поліморфізму оцінювали за середнім значенням Polymorphism Information Content (PIC), що розраховується за формулою:

$$S_{ij} = 2N_{ij}/(N_i+N_j), \text{ де}$$

N_{ij} – кількість алелів, наявних в i -тому та j -тому генотипах,

N_i – кількість алелів, наявних у i -тому генотипі,

N_j – кількість алелів, наявних у j -тому генотипі,

$$i, j = 1, 2, \dots [18, 19].$$

Ампліфікацію фрагментів здійснювали щонайменше двічі. Наявність амплікону певного розміру оцінювали за бінарною системою: 1 – наявний, 0 – відсутній. Генетичні дистанції між генотипами були визначені за допомогою програми Free Tree [20] на основі розрахованих коефіцієнтів Нея та Лі [21] і стандартних генетичних дистанцій Нея [22], що в свою чергу розраховувалися на основі наявності/відсутності ампліконів різної молекулярної маси. Розраховані значення подібності були використані для здійснення кластерного аналізу та побудови дендрограми за методом UPGMA. Результати кластеризації оцінювали на основі 1000 бутстрепів за допомогою згаданої вище програми [23]. Візуалізація фінальних дендрограм здійснювалася за допомогою програми FigTree v1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree>).

Результати та обговорення

Нами було досліджено 7 генотипів пекінської капусти (*B. rapa ssp. pekinensis*) різного походження. Молекулярні профілі для кожного генотипу, отримані за допомогою методу ТВР, наведені на рис. 1. Цільовими фрагментами вважалися амплікони розмірами від 290 п. о. до 1500 п. о. Під час аналізу результатів амплікони більших розмірів не враховувалися, оскільки є ризик того, що поява фрагментів, більших від 1500 п. о., може виникати внаслідок напрацювання неспецифічних продуктів ПЛР, що часто не відтворюються за повторних експериментів [24].

Таблиця 1. Зразки *B. rapa ssp. pekinensis*, використані у дослідженні, та їхнє походження

№	Форма	Колекція	Назва зразка	Код зразка	Місце походження
1	-	Crop Research Institute, Prague-Ruzyne	Granaat	09H2700165	Нідерланди
2	<i>var. glabra</i>	ІПК-Gatersleben	Zwaans Cantoner	BRA 130	Нідерланди
3	<i>var. glabra</i>	ІПК-Gatersleben	Jaegerkohl	BRA 467	Швейцарія
4	<i>var. glabra</i>	ІПК-Gatersleben	Granat	BRA 1614	Нідерланди
5	<i>var. laxa</i>	ІПК-Gatersleben	-	BRA 1600	США
6	<i>var. laxa</i>	ІПК-Gatersleben	Santong	BRA 214	Німеччина
7	<i>var. laxa</i>	ІПК-Gatersleben	-	BRA 2324	Китай

Кількість ампліконів інтронів β -тубуліну була достатньо великою та значно варіювала – від 12 до 24 фрагментів для кожного генотипу. Наразі кількість ізотипів β -тубуліну для *B. rapa* ssp. *pekinensis* невідома, однак раніше було встановлено, що в інших Хрестоцвітних, зокрема таких, як *Arabidopsis thaliana*, число ізотипів становить 9, а у *C. sativa* – 20 [25]. Також раніше було охарактеризовано сімейство генів β -тубуліну у *B. rapa* ssp. *pekinensis* та була встановлена їхня інтрон-екзонна структура [26]. Отже, існує можливість для характеристики генетичного різноманіття *B. rapa* ssp. *pekinensis* за допомогою методу поліморфізму інтронів β -тубуліну, однак ТВР як метод є достатньо апробованим та вже продемонстрував свою ефективність у генотипуванні рослин різних видів [15, 24, 27].

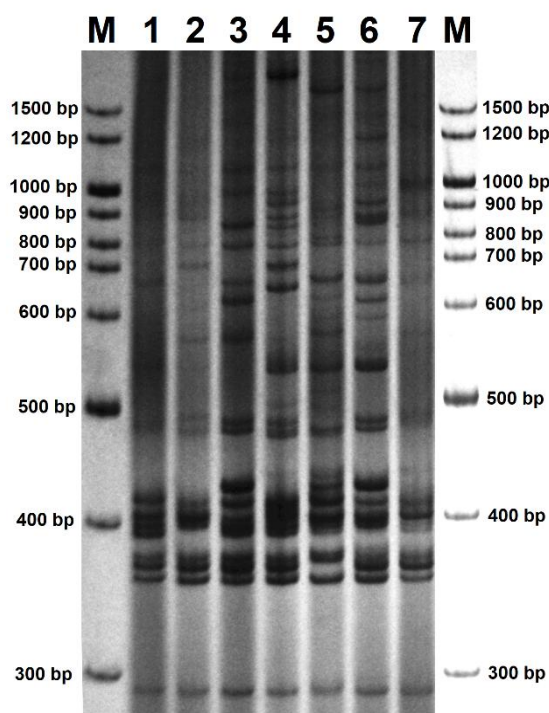


Рис. 1. Молекулярні профілі різних форм *B. rapa* ssp. *pekinensis*. М – маркер молекулярної маси; 1 - 09H2700165; 2 - BRA 130; 3 - BRA 467; 4 - BRA 1614; 5 - BRA 1600; 6 - BRA 214; 7 - BRA 2324.

Молекулярна маса ампліфікованих фрагментів суттєво різнилася у всіх досліджених зразках. Однак варто відмітити, що у ділянках довжиною приблизно 360–380, 390–440 та 480–490 п. о. кількість ампліконів була або подібною, або такою, що відповідала за розмірами лише одному з двох ампліконів (BRA 1600). Це

може свідчити про гомо- та гетерозиготний стан алелей відповідних тим чи іншим ізотипам β -тубуліну.

На основі отриманих нами даних були обчислені коефіцієнти Нея та Лі, ґрунтуючись на які була побудована дендрограма, що відображає генетичні дистанції між дослідженими генотипами. Як видно з рис. 2, кладограма поділяється на дві глобальні гілки, в одній з яких знаходиться *B. rapa* ssp. *pekinensis* var. *laxa* (BRA 2324, Китай) та генотип 09H2700165, який, швидше за все, також відноситься до форми *var. laxa*. Ці зразки є також одними з найбільш подібних за молекулярними профілями. В іншій (верхній) гілці розташовуються генотипи переважно європейського походження та один із США. Група BRA 214- BRA 467- BRA 130 представлена двома формами *var. glabra* та однією *var. laxa*. Такі зразки хоча й відносяться до різних сортів, але походять з достатньо близько розташованих країн Західної Європи (Нідерланди, Німеччина, Швейцарія).

Варто зазначити, що зразки BRA 1600 та BRA 1614 відносяться до окремої субклади, хоча і є представниками різних форм. Також цікаво, що обидва генотипи (09H2700165 та BRA 1614) походять із Нідерландів і, найбільш імовірно, походять від одного вихідного сорту Graanaat або Granat (залежно від написання). Однак тривале підтримання цього генотипу в умовах різних генетичних банків призвело до того, що ці зразки генетично суттєво відрізняються один від одного і, швидше за все, більше не належать до одного сорту. Додаткові дослідження з іншими маркерними системами дозволили б остаточно підтвердити таке припущення. Також форми *var. glabra* та *var. laxa* не розділяються на рис. 2 на окремі групи. Більше того, відмінності у молекулярних профілях між генотипами більш значні, ніж між формами (рис. 1). В окремих джерелах [5] ці форми взагалі не розрізняються, а їх таксономічне положення ідентифікується як *B. rapa* ssp. *pekinensis*. Встановлені генетичні дистанції можуть слугувати потужним інструментом для селекційного вдосконалення пекинської капусти, що дозволило б отримати гетерозисні лінії на основі описаних найбільш генетично віддалених гомозигот. Раніше ефективність такого підходу була описана та доведена для *B. rapa* ssp. *pekinensis* [28].

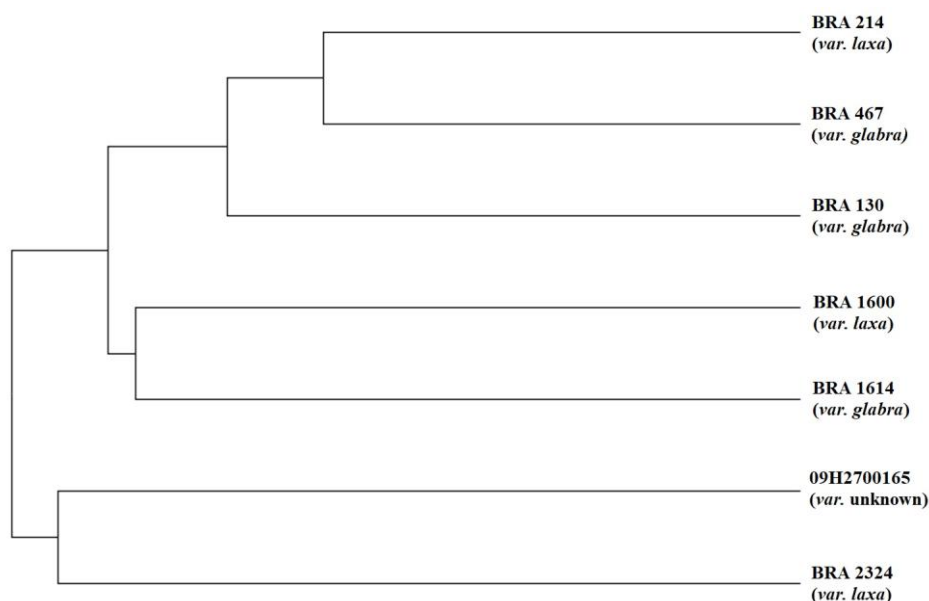


Рис. 2. Дендрограма, побудована на основі даних поліморфізму інтронів β -тубуліну в різних підвидів *B. rapa* ssp. *pekinensis*.

Висновки

У межах нашого дослідження було проаналізовано 7 генотипів *B. rapa* ssp. *pekinensis*, отриманих з генетичних банків з ІПК (Гатерслебен) та Crop Research Institute (Прага). За допомогою методу поліморфізму інтронів β -тубуліну було проведено молекулярне генотипування цих зразків та встановлено генетичні дистанції між ними. На основі отриманих результатів виявлено, що систематичний розподіл на форми *var. glabra* та *var. laxa* не підтверджується молекулярно-генетичними методами, а різниця між популяціями або сортами є більш значущою. З урахуванням кількості одержаних

ампліконів на молекулярно-генетичних профілях (12-24) можна припустити, що *B. rapa* ssp. *pekinensis* може мати близько 12 ізотипів β -тубуліну або й більше. Однак таке припущення не остаточне та потребує додаткових досліджень. Також можна зробити висновок, що гомозиготами за найбільшою кількістю ізотипів β -тубуліну є зразки 09H2700165, BRA 130, BRA 2324. Цей факт, як і визначені генетичні дистанції, може бути використаний для подальшої селекційної роботи з отримання більш продуктивних ліній *B. rapa* ssp. *pekinensis* або виграшних гетерозисних комбінацій.

References

- Downey R.K. The origin and description of the *Brassica* oilseed crops, In: Kramer J.K.G., Sauer F.D., Pigden W.J. (Eds.), High and low erucic acid rapeseed oils production, usage, chemistry, and toxicological evaluation. Academic Press, Toronto, 1983. P. 1–20.
- Gugel R.K., Falk K.C. Agronomic and seed quality evaluation of *Camelina sativa* in western Canada. *Can. J. Plant Sci.* 2006. Vol. 86. P. 1047–1058.
- Warwick S.I., Francis A., Al-Shehbaz I.A. Brassicaceae: species checklist and database on CD-Rom. *Plant Syst. Evol.* 2006. Vol. 259. P. 249–258.
- Warwick S.I., Gugel R., McDonald T., Falk K.C. Genetic variation and agronomic potential of Ethiopian mustard (*Brassica carinata*) in western Canada. *Genet. Resour. Crop. Evol.* 2006. Vol. 53. P. 297–312.
- Warwick S.I. Brassicaceae in agriculture, In: Schmidt R., Bancroft I. (Eds), Genetics and Genomics of the Brassicaceae. Springer Science+Business Media; LLC, New York, NY, 2011. P. 33–65.
- Warwick S.I., Simard M.J., Лйгиге А., Beckie H.J., Braun L., Zhu B., Mason P., Сйгуин-Сварц G., Stewart C.N. Jr. Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., and *Erucastrum gallicum* (Willd.) O. E. Schulz. *Theor. Appl. Genet.* 2003. Vol. 107. P. 528–539.
- Allainguillaume J., Alexander M., Bullock J.M., Saunders M., Allender C.J., King G., Ford C.S., Wilkinson M.J. Fitness of hybrids between rapeseed (*Brassica napus*) and wild *Brassica rapa* in natural habitats. *Mol. Ecol.* 2006. Vol. 15, № 4. P. 1175–1184.
- Sohn S.I., Oh Y.J., Lee K.R., Ko H.C., Cho H.S., Lee Y.H., Chang A. Characteristics analysis of F₁ hybrids between genetically modified *Brassica napus* and *B. rapa*. *PLOS ONE*. 2016. Vol. 11, № 9. P. e0162103.

9. Rakhmetov D.B., Rakhmetova S.O. Summary of introduction and breeding of tyfon (*Brassica rapa* L. × *B. campestris* f. *biennis* DC.) in M.M. Gryshko National Botanical Garden of the NAS of Ukraine. *Plant Introduction*. 2015. Vol. 4. P. 18–30. [in Ukrainian] / Рахметов Д.Б., Рахметова С.О. Підсумки інтродукції та селекції тифону (*Brassica rapa* L. × *B. campestris* f. *biennis* DC.) в Національному ботанічному саду ім. М.М. Гришка НАН України. *Інтродукція рослин*. 2015. Т. 4. С. 18–30.
10. Blume R.Ya., Boychuk Yu.M., Yemets A.I., Rakhmetova S.O., Blume Ya.B., Rakhmetov D.B. Comparative analysis of fatty acid composition for oils from seeds of tyfon, oil radish and camelina breeding forms and varieties as perspective source for biodiesel production. *Factors Exp. Evol. Organisms*. 2016. Vol. 18 P. 61–66. [in Ukrainian] / Блюм Р.Я., Бойчук Ю.М., Ємець А.І., Рахметова С.О., Блюм Я.Б., Рахметов Д.Б. Порівняльна оцінка жирнокислотного складу олій насіння форм та сортів тифону, редьки олійної і рижю як перспективної сировини для отримання біодизелю. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2016. Т. 18. С. 61–66.
11. Blume R.Ya., Lantukh G.V., Levchuk I.V., Rakhmetova S.O., Rakhmetov D.B., Blume Ya.B. Evaluation of perspectivity of use of a new hybrid oil culture of Tyfon in comparison with its parental species as raw material for biodiesel production. *Factors Exp. Evol. Organisms*. 2019. Vol. 24. P. 33–39. [in Ukrainian] / Блюм Р.Я., Лантух Г.В., Левчук І.В., Рахметова С.О., Рахметов Д.Б., Блюм Я.Б. Оцінка перспективності використання нової гібридної олійної культури тифону у порівнянні з її батьківськими видами як сировини для виробництва біодизеля. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2019. Т. 24. С. 33–39.
12. Blume R.Y., Lantukh G.V., Levchuk I.V., Rakhmetov D.B., Blume Ya.B. Evaluation of potential biodiesel feedstocks from industrial Cruciferae: camelina, turnip rape, oil radish and tyfon. *The Open Agricult. J. Thematic Iss.: Sustainable biofuel production: agricultural feedstock potential and biomass transformation technologies*. 2020. (In Press).
13. Bardini M., Lee D., Donini P., Mariani A., Giani S., Toschi M., Lowe C., Breviario D. Tubulin-based polymorphism (TBP): a new tool, based on functionally relevant sequences, to assess genetic diversity in plant species. *Genome*. 2004. Vol. 47. P. 281–291.
14. Breviario D., Giani S., Ponzoni T., Mastromauro F., Morell L. Plant tubulin intronics. *Cell Biol. Int.* 2008. Vol. 32. P. 571–573.
15. Рабокoнь А.Н., Демкович А.Е., Пирко Я.В., Блюм Я.Б. Полиморфизм длины интронов генов бета-тубулина как эффективный инструмент генотипирования растений. *Молекулярная и прикладная генетика*. 2015. Т. 19. P. 35–44. [in Russian] / Rabokon A.N., Demkovych A.E., Pirko Ya.V., Blume Ya.B. Intron length polymorphism of beta-tubulin genes as an effective instrument for plant genotyping. *Mol. Appl. Genetics*. 2015. Vol. 19. P. 35–44.
16. Sambrook J., David W.R. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor, 2001. Vol. 2. 763 p.
17. Benbouza H., Jean-Marie J., Jean-Pierre B. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2006. Vol. 10 (2). P. 77–81.
18. Breviario, D., Baird, W.V., Sangoi, S., Hilu, K., Blumetti, P., Giani, S. High polymorphism and resolution in targeted fingerprinting with combined β-tubulin introns. *Mol. Breed.* 2007. Vol. 20. P. 249–259.
19. Hongtrakul V., Huestis G.M., Knapp S.J. Amplified fragment length polymorphisms as a tool for DNA fingerprinting sunflower germplasm: genetic diversity among oilseed inbred lines. *Theor. Appl. Genet.* 1997. Vol. 95. P. 400–407.
20. Pavlicek A., Hrda S., Flegr J. FreeTree – Freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of the genus *Frenkelia*. *Folia Biol.* 1999. Vol. 45. P. 97–99.
21. Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1979. Vol. 76. P. 5269–5273.
22. Nei M. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* 1972. Vol. 106. P. 283–292.
23. Hillis D.M., Bull J.J. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Systematic Biol.* 1993. Vol. 42. P. 182–192.
24. Rabokon A.N., Pirko Ya.V., Demkovych A.E., Blume Ya.B. Comparative analysis of the efficiency of intron-length polymorphism of β-tubulin genes and microsatellite loci for flax varieties genotyping. *Cytol. Genet.* 2018. Vol. 52, № 1. P. 1–10.
25. Galasso I., Manca A., Braglia L., Martinelli T., Morello L., Breviario D. An approach based on intron-length polymorphism for the rapid isolation and characterization of the multiple members of the β-tubulin gene family in *Camelina sativa* (L.) Crantz. *Mol. Breed.* 2011. Vol. 28. P. 635–645.
26. Zhang Y.W., Jin D., Xu C., Zhang L., Guo M.H., Fang Z.Y. Regulation of bolting and identification of the β-tubulin gene family in *Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*. *Genet. Mol. Res.* 2016. Vol. 15, № 1. P. gmr.15017507.
27. Rabokon A.M., Pirko Y.V., Demkovych A.Ye., Andreev I.O., Parnikoza I.Yu., Kozeretska I.A., Yu Z., Kunakh V.A., Blume Y.B. Intron length polymorphism of β-tubulin genes in *Deschampsia antarctica* E. Desv. across the western coast of the Antarctic Peninsula. *Polar Sci.* 2019. Vol. 19. P. 151–154.
28. Kawamura K., Kawanabe T., Shimizu M., Nagano A.J., Saeki N., Okazaki K., Kaji M., Dennis E.S., Osabe K., Fujimoto R. Genetic distance of inbred lines of Chinese cabbage and its relationship to heterosis. *Plant Gene*. 2016. Vol. 5. P. 1–7.

BLUME R.Ya.^{1,2}, RABOKON A.N.², PIRKO Ya.V.²

¹ Educational and Scientific Center "Institute of Biology and Medicine", Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine, 03022, Kyiv, Akademika Glushkova ave., 2, e-mail: blume.rostislav@gmail.com

² Institute of Food Biotechnology and Genomics NAS of Ukraine, Ukraine, 04123, Kyiv, Osypovskogo str., 2a, e-mail: cellbio@cellbio.freenet.viaduk.net

β-TUBULIN INTRON LENGTH POLYMORPHISM AMONG FORMS *var. glabra* AND *var. laxa* OF NAPA CABBAGE

Aim. Main aim of this research was identification of genetic distances between different genotypes of napa cabbage (*B. rapa* ssp. *pekinensis*) and diversity identification in *var. glabra* and *var. laxa* forms. **Methods.** Molecular genetic analysis of napa cabbage genotypes was conducted out using method of β-tubulin intron length polymorphism (TBP).

Results. Molecular profiles of different napa cabbage (*B. rapa* ssp. *pekinensis*) genotypes were identified. Number of amplified β-tubulin intron fragments was significantly varying – from 12 to 24 for each genotype. Basing on obtained results a dendrogram was built, which shows genetic distances among studied accessions. **Conclusions.** In present study 7 genotypes of *B. rapa* ssp. *pekinensis* were analyzed, received from IPK (Gatersleben) and Crop Research Institute (Prague) gene banks. Basing on obtained results it was established that systematic diversification of two forms *var. glabra* and *var. laxa* is not being confirmed by molecular genetic methods, such as TBP, and in this case, genetic difference between populations and cultivars was more significant.

Keywords: *Brassicaceae*, *Brassica rapa* ssp. *pekinensis*, ILP, TBP, napa cabbage, β-tubulin intron length polymorphism.