

haven't been enough covered in scientific sources. **Methods.** Morphological, zootechnical and histological methods of investigation of separate skeletal bones formation in ontogenesis of wild boar and White Swine breed have been used. **Results.** Weight of bone and osteogenesis in foetus of wild European boar in comparison with foetus development of White Swine breed has been studied. There was boar's leg weight during 50-days age more on 118 %, than White Swine's one. Bones of domestic animals grew more intensively at 70-days age that is connected with domestication process. However, development of red marrow and erithropoesis took place more intensively in bony tissue of wild animals. **Conclusions.** Premolars and incisors of *Sus* gender have been the most changed during evolutionary processes of tooth system. Formation of bone and muscle system in ontogenesis process of wild and domestic swine proved that there was high intensity of osteogenesis for domestic animals, and there was high intensity of erithropoesis for wild swine. Wild boar can be donor of valuable peculiarities for high natural resistance and life of modern breeds.

**Key words:** genus *Sus*, evolution, tooth and bone systems.

УДК 631.52:575.113

ЧЕРЧЕЛЬ В.Ю.<sup>1</sup>, САТАРОВА Т.М.<sup>1</sup>, БОРИСОВА В.В.<sup>1</sup>, АБРАИМОВА О.Є.<sup>1</sup>, ФЕДЬКО М.М.<sup>1</sup>, СТЕПНЕВСЬКА Я.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ДУ Інститут сільського господарства степової зони НААН України,

Україна, 49600, м. Дніпропетровськ, вул. Дзержинського, 14, e-mail: satarova2008@yandex.ru

<sup>2</sup> ДВНЗ Український державний хіміко-технологічний університет,

Україна, 49005, м. Дніпропетровськ, пр. Гагаріна, 8

## ВИКОРИСТАННЯ SNP-АНАЛІЗУ ДЛЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ СЕЛЕКЦІЙНОГО МАТЕРІАЛУ КУКУРУДЗИ І СОРГО

Аналіз однуклеотидного поліморфізму ДНК (SNP-аналіз) є сучасним молекулярно-генетичним методом, який набуває широкого використання в практичній селекції культурних рослин і ефективно застосовується для ідентифікації та паспортизації генотипів, кластеризації і прогнозування гетерозису, маркування господарсько-цінних ознак [1]. Кукурудза і сорго – культурні рослини родини *Gramineae*, цінні харчові, кормові та технічні культури, однак, неоднаково вивчені у відношенні молекулярно-генетичного поліморфізму та селекційного поліпшення. Кукурудза за характером молекулярно-генетичного поліморфізму вивчена значно ширше та може слугувати моделлю для розробки методичних підходів і принципів застосування SNP-аналізу у злаків, в тому числі у сорго, селекція і виробництва якого в Україні інтенсифікуються. С точки зору класифікації ліній, стратегії їх використання в гібридах та при закладанні синтетичних популяцій для нових циклів відборів актуальним є визначення генетичної структури лінії та характеру її зміни від предків до нащадків в процесі синтезу лінії [2]. Метою даної роботи було визначення внеску предкових популяцій в генетичну структуру сучасних ліній кукурудзи за результатами аналізу однуклеотидного

поліморфізму ДНК.

### Матеріали і методи

SNP-генотипування 5 ліній кукурудзи та їх предкових форм проводили з використанням GoldenGate тесту, системи зчитування результатів Illumina VeraCode і матриці Sentrix array matrice (SAM) [3]. Молекулярно-генетичну частину роботи проводили на базі фірми BioDiagnostics, Inc. (США), якою на основі Illumina VeraCode Bead Plate розроблено використану в нашій роботі панель BDI-III з 384 SNP-маркерів, найбільш придатних для виявлення поліморфізму сучасного селекційного генофонду кукурудзи [4]. ДНК виділяли з пагонів 7-добових проростків за [5]. Для аналізу внеску предкових популяцій в генетичну структуру ліній кукурудзи української селекції результати SNP-генотипування були оброблені нами за комп'ютерною програмою STRUCTURE [6] з використанням моделей admixture та корельованої частоти алелів. Даний тип аналізу висуває наступні вимоги до зразків: особини, що аналізуються, можуть мати змішане походження, тобто, передбачається, що особина *i* успадковує певну фракцію свого геному від однієї, декількох або всіх *k* популяцій предків, а генотипи нащадків є результатом корельованого дрейфу частот алелів предкових популяцій.

Методичні принципи аналізу дозволяють розрахувати коефіцієнти приналежності даного генотипу ( $Q$ ) до кожної з  $k$ -груп, тобто визначити залишковий внесок предків в генотип сучасної лінії-нащадка. Попарні генетичні дистанції між лініями визначали як частку проаналізованих SNP-маркерів, за якими обидві лінії мали однаковий алейльний стан.

#### Результати та обговорення

Попередній SNP-аналіз генетичної структури популяції з 90 ліній кукурудзи дозволив розділити їх на  $k = 5$  основних груп. Як такі, що належать до певної групи, вважаються лінії з  $Q \geq 0,600$  [6]. Для групи 1 найбільш типовою виявилася лінія В73 ( $Q = 0,998$ ), для групи 2 – лінія Oh43 ( $Q = 0,989$ ), для групи 3 – Мо17 ( $Q = 0,998$ ), для групи 4 – Р165 ( $Q = 0,998$ ), для групи 5 – В14 ( $Q = 0,997$ ). Для кожної з 6 досліджених нами ліній були розраховані коефіцієнти приналежності  $Q$  до тієї чи іншої групи за алейльним станом SNP-локусів.

**Лінія ДК2/427** (табл. 1, 2) була створена шляхом добору з популяції від самозапилення гібрида  $F_2 \times$  ДК427, відомо, що лінія ДК427 є потомком лінії Oh43.

Лінія ДК2/427 зберегла основну частку генетичного матеріалу групи 2 (Oh43), за часткою генетичного матеріалу груп 1 (В73) і 5 (В14) зайняла проміжне положення між предковими формами та має дещо збільшену частку групи 3 (Мо17). Останні, однак, зробили незначний, менше 1 %, внесок в генотип лінії ДК2/427.

Розподіл генетичних дистанцій вказує на значну віддаленість предка батьківської форми – лінії Oh43 та на поступове зменшення варіювання за складом нуклеотидів в SNP-сайтах в напрямку від Oh43 через ДК427 до ДК2/427. Безпосередньо материнська форма

гібрида, з якого відібрано лінію ДК2/427, лишилася на досить значній генетичній відстані від свого нащадка.

**Лінія ДК272** (табл. 3, 4) веде походження від гібрида ДК2/707  $\times$  ДК2/427. Лінія ДК2/707 створена шляхом самозапилення рослин гібрида  $F_2 \times$  ДК507, причому лінія ДК507 є нащадком лінії В37. Походження лінії ДК2/427 наводиться вище.

**Лінія ДК296** створена шляхом відборів з гібрида  $F_1$ , предками материнської форми якого були лінії А619 та ДК366, а в родоводі чоловічої форми присутня лінія Мо17. Аналіз зміни  $Q$ -коефіцієнтів при формуванні лінії ДК296 (табл. 5) та генетичних дистанцій (табл. 6) показує зовсім іншу, ніж у попередніх випадках, тенденцію перерозподілу генетичного матеріалу в процесі гібридизації та добору. Так, жодна з предкових форм не зберегла своєї домінуючої ролі, і лінія-нащадок ДК296 від групи 2 (Oh43) має частку лише в 0,347, а від групи 3 (Мо17) – 0,564, тобто, відноситься до групи, які слід позначити як групу 6 (Міх).

Навіть в четвертому поколінні від вихідної лінії Oh43 внаслідок спрямованої гібридизації та відборів за довжиною вегетаційного періоду, консистенцією зерна та посухостійкістю в генотипі лінії ДК272 зберігається переважна частка генетичного матеріалу групи 2 (Oh43), а частка групи 4 (Р165) продовжує зменшуватися. В генотипі лінії ДК272 також відмічається невелике поступове зростання частки генетичного матеріалу груп 1 (В73), 5 (В14) і, особливо, групи 3 (Мо17). Зміна генетичних дистанцій підтверджує тенденції щодо перерозподілу генетичного внеску предків в геном лінії ДК272, виявлені при аналізі її генетичної структури.

Таблиця 1. Внесок предкових форм в генотип нащадків при створенні лінії кукурудзи ДК2/427

Лінія	Коефіцієнти приналежності $Q$				
	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4	Група 5
Лінія-предок однієї з батьківських форм гібрида $F_1$					
Oh43	0,002	0,989	0,003	0,003	0,003
Нащадок					
ДК2/427	0,005	0,912	0,011	0,069	0,004

Таблиця 2. Генетичні дистанції між лінією ДК2/427 та компонентами предкової популяції

Компоненти предкової популяції	Лінія ДК2/427
Материнська форма гібрида F <sub>1</sub>	
F <sub>2</sub>	0,311765
Лінія – предок батьківської форми гібрида F <sub>1</sub> (лінії ДК427)	
Oh43	0,359195
Батьківська форма гібрида F <sub>1</sub>	
ДК427	0,189504

Примітка: генетична дистанція між Oh43 та ДК427 складає 0,349854.

Таблиця 3. Внесок предкових форм в генотип нащадків при створенні лінії кукурудзи ДК272

Лінія	Коефіцієнти приналежності Q				
	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4	Група 5
Предкові форми збоку одного з батьків					
Oh43	0,002	0,989	0,003	0,003	0,003
ДК2/427	0,005	0,912	0,011	0,069	0,004
Нащадок					
ДК272	0,015	0,863	0,087	0,021	0,013

Таблиця 4. Генетичні дистанції між лінією ДК272 та компонентами предкової популяції

Компоненти предкової популяції	Лінія ДК272
Лінія – прапредок материнської форми гібрида F <sub>1</sub> (лінії ДК2/707) збоку ДК507- 1гер	
V37	0,449568
Лінії – предки материнської форми гібрида F <sub>1</sub> (лінії ДК2/707)	
F <sub>2</sub>	0,271642
ДК507	0,426087
Лінія – прапредок батьківської форми гібрида F <sub>1</sub> (лінії ДК2/427) збоку ДК427	
Oh43	0,401734
Лінії – предки батьківської форми гібрида F <sub>1</sub> (лінії 2/ДК427)	
F <sub>2</sub>	0,271642
ДК427	0,314706
Батьківська форма гібрида F <sub>1</sub>	
ДК2/427	0,275072

Примітка: генетична дистанція між F<sub>2</sub> та ДК2/427 складає 0,311765, між ДК427 та ДК2/427 – 0,189504, між Oh43 та ДК2/427 – 0,359195.

Таблиця 5. Внесок предкових форм в генотип нащадків при створенні лінії кукурудзи ДК296

Лінія	Коефіцієнти приналежності Q				
	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4	Група 5
Лінії-предки материнської форми гібрида F <sub>1</sub>					
A619	0,001	0,989	0,004	0,004	0,002
ДК366	0,045	0,757	0,114	0,043	0,040
Лінія-предок батьківської форми гібрида F <sub>1</sub>					
Mo17	0,001	0,001	0,998	0,001	0,001
Нащадок					
ДК296	0,004	0,347	0,564	0,078	0,007

Генетична структура ліній ДК231 та ДК236 та динаміка зміни генетичних дистанцій при їх генезисі представлені у табл. 7–9. Ці дві лінії створені шляхом добору та самозапилення відібраних рослин з однієї і тієї ж вихідної популяції, сформованої з беккросного гібрида (ДК633 × F<sub>2</sub>) × ДК633. Відомо, що лінія ДК633 веде своє походження від лінії Мо17.

Отримані з однієї вихідної популяції, лінії ДК231 та ДК236, тем не менш, розрізняються за перерозподілом часток предкових геномів. Так, лінія ДК231 успадкувала від предкової форми

Мо17 (група 3) за два покоління відбору лише 78,66 % генних комплексів, а внесок інших груп залишився незначним. При створенні лінії ДК236 навпаки, нова лінія через два покоління добору зберегла частку геному Мо17 (група 3) на 99,30 %, решта груп мали невеликий та проміжний між предковими формами внесок в генотип нової лінії. Аналіз генетичних дистанцій показує, що обидві сестринські лінії значно наближені саме до материнської форми і її предка Мо17, особливо ДК236, та, навпаки, віддалені від батьківської лінії F<sub>2</sub>.

Таблиця 6. Генетичні дистанції між лінією ДК296 та компонентами предкової популяції

Компоненти предкової популяції	Лінія ДК296
Лінії – предки материнської форми гібрида F <sub>1</sub>	
А619	0,407303
ДК366	0,355114
Лінія – предок батьківської форми гібрида F <sub>1</sub>	
Мо17	0,276836

Примітка: генетична дистанція між А619 та ДК366 становить 0,440000, між А619 та Мо17 – 0,412429, між ДК366 та Мо17 – 0,432277.

Таблиця 7. Внесок предкових форм у генотип нащадків при створенні лінії кукурудзи ДК231

Лінія	Коефіцієнти приналежності Q				
	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4	Група 5
Предкова форма збоку першого батька					
Мо17	0,001	0,001	0,998	0,001	0,001
Нащадок					
ДК231	0,014	0,175	0,785	0,018	0,008

Таблиця 8. Внесок предкових форм у генотип нащадків при створенні лінії кукурудзи ДК236

Лінія	Коефіцієнти приналежності Q				
	Група 1	Група 2	Група 3	Група 4	Група 5
Предкова форма збоку першого батька					
Мо17	0,001	0,001	0,998	0,001	0,001
Нащадок					
ДК236	0,002	0,003	0,991	0,001	0,003

Таблиця 9. Генетичні дистанції між ДК231, ДК236 та компонентами предкової популяції

Компоненти предкової популяції	Лінія ДК231	Лінія ДК236
Лінія-предок материнської форми гібрида F <sub>1</sub> (лінії ДК633)		
Мо17	0,232955	0,177966
Материнська лінія гібрида F <sub>1</sub>		
ДК633	0,126437	0,088319
Батьківська лінія гібрида F <sub>1</sub>		
F <sub>2</sub>	0,325581	0,354651
Лінії, відібрані з предкової популяції (гібрида F <sub>1</sub> )		
ДК231	0	0,11050
ДК236	0,11050	0

Примітка: генетична дистанція між Мо17 та ДК633 складає 0,106936, між Мо17 та F<sub>2</sub> – 0,429412, між ДК633 та F<sub>2</sub> – 0,418879.

Різні типи успадкування часток геномів предкових форм, розглянуті нами на наведених вище прикладах, фактично є узагальненим відображенням рекомбінаційного потенціалу вихідних популяцій, створених із залученням генетично різноманітних батьківських форм, та результатом цілеспрямованого добору з цих популяцій генотипів, які відповідають моделі, найбільш прийнятної для умов Степу.

#### Висновки

Отримані результати засвідчують різноспрямованість зміни генетичної структури селекційного матеріалу в процесі дії добору при рекомбінації та синтезу нових ліній кукурудзи. Так, при використанні у гібридизації батьківських форм, споріднених до групи Oh43 (2), в лінії-нащадку суттєво, на 75,7–91,2 %, превалюють генні комплекси вихідної групи 2. При використанні у гібридизації батьківських форм, створених на основі генетичного

матеріалу, спорідненого до групи Mo17 (3) в лінії-нащадку суттєво, на 78,5–99,1 %, переважають генні комплекси групи 3. Проте, при гібридизації батьківських форм, які одночасно походять від групи 2 (Oh43) та групи 3 (Mo17), відбувається змішування генних комплексів цих двох комплексів у співвідношенні для проаналізованої лінії ДК296, відповідно, 34,7 : 56,4 %. Таким чином, аналіз генетичної структури селекційного матеріалу за результатами SNP-генотипування дозволяє контролювати напрямок зміни та співвідношення часток матеріалу різного походження в їх родоводі і рекомендується для застосування у споріднених видів родини *Gramineae*, зокрема, кукурудзи і сорго.

*Робота виконана за підтримки Державного агентства з питань науки, інновацій та інформатизації України в рамках договору № ДЗ/462-2013.*

#### Література

1. Syvdnen A.-Ch. Accessing genetic variation: genotyping single nucleotide polymorphisms // *Nature reviews. Genetics.* – 2001. – 2. – P. 930–942.
2. Lu Y., Yan J., Guimardes C.T. et al. Molecular characterization of global maize breeding germplasm based on genome-wide single nucleotide polymorphisms // *Theor. Appl. Genet.* – 2009. – 120. – P. 93–115.
3. Fan J.B., Gunderson K.L., Bibikova M. et al. Illumina universal bead arrays // *Methods Enzymol.* – 2006. – 410. – P. 57–73.
4. Venkatramana P., Carison C., Blackstad M. et al. Development and characterization of single nucleotide polymorphism (SNP) panel for markers-assisted backcrossing in corn [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.biodiagnostics.net/wp-content/uploads/2012/07/singlenucleotide.pdf>.
5. Murray M.G., Thompson W.F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic Acids Res.* – 1980. – 8, N 19. – P. 4321–4326.
6. Pritchard J.K., Wen X., Falush D. Documentation of structure software: Version 2.3 [Електронний ресурс]. – 2010. – 38 p. – Режим доступу: <http://pritch.bsd.uchicago.edu/structure.html>

**CHERCHEL V.JU.<sup>1</sup>, SATAROVA T.M.<sup>1</sup>, BORYSOVA V.V.<sup>1</sup>, ABRAIMOVA O.E.<sup>1</sup>, FEDKO M.M.<sup>1</sup>, STEPNEVSKA YA.V.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *State enterprise Institute of agriculture of steppe zone NAAS of Ukraine, Ukraine, 49600, Dnipropetrovs'k, Dzerzhinsky str., 14, e-mail: satarova2008@yandex.ru*

<sup>2</sup> *Ukrainian State University of Chemical Technology, Ukraine, 49005, Dnipropetrovs'k, Gagarin av., 8*

#### APPLICATION OF SNP-ANALYSIS FOR THE CHARACTERIZATION OF GENETIC STRUCTURE OF BREEDING MATERIAL IN MAIZE AND SORGHUM

**Aims.** The determination of the contribution of precursor populations into the genetic structure of modern inbreds according to the results of DNA single nucleotide polymorphism analysis. **Methods.** SNP-genotyping of 5 maize inbreds with GoldenGate test, Illumina VeraCode, Sentrix array matrix, BDI-III-panel of 384 SNP-markers, computer analysis by STRUCTURE software. **Results.** A share of precursor pedigree genomes into genomes of modern maize inbreds DK2/427, DK272, DK296, DK231 and DK236 on SNP-markers has been determined. **Conclusions.** SNP-genotyping permits to control the direction of alterations and ratios of genetic material of different origin and has been recommended to the application in selection of related species in *Gramineae*, maize and sorghum.

**Key words:** SNP-markers, genetic distance, breeding material, maize, sorghum.