

УДК 577.21:633.15

АЛЕЛЬНИЙ СТАН SNP-МАРКЕРІВ, ХАРАКТЕРНИЙ ДЛЯ ЛІНІЙ КУКУРУДЗИ ПЛАЗМИ ЛАНКАСТЕР

К. В. ДЕРКАЧ, Т. М. САТАРОВА, В. В. БОРИСОВА, В. Ю. ЧЕРЧЕЛЬ

Державна установа Інститут зернових культур НААН України
Україна, 49027, м. Дніпро, вул. В. Вернадського, 14
e-mail: satarova2008@ukr.net, kvderkach@gmail.com

Мета. Ідентифікувати алелі SNP-маркерів, специфічні для ліній кукурудзи зародкової плазми Ланкастер порівняно з лініями інших зародкових плазм. **Методи.** Аналіз одонуклеотидного поліморфізму ДНК за 384 SNP-маркерами панелі BDI-IIIa з використанням GoldenGate-тесту та системи зчитування результатів Illumina VeraCode. **Результати.** Найбільша різниця між частотами однойменних алелей в двох групах ліній, на рівні $D = 0,74$, була зафіксована для SNP-маркера BDI-IIIa-332. Для маркерів, обраних за результатами ранжування при $D = 0,53 - 0,74$, діапазон частот мажорних алелей в групі неланкастерівських ліній склав $0,57 - 0,84$. У групі ліній плазми Ланкастер частоти цих же алелей знизилися до $0,03 - 0,10$. Ідентифіковано пропущені в групі ліній Ланкастер та унікальні для неланкастерівських ліній алелі за 16 SNP-маркерами. **Висновки.** Набір алелей SNP-маркерів панелі BDI-IIIa, специфічних для ліній плазми Ланкастер, встановлено як BDI-IIIa-332Г, BDI-IIIa-151A, BDI-IIIa-331Т, BDI-IIIa-335Ц, BDI-IIIa-185Ц, BDI-IIIa-181Ц, BDI-IIIa-83Ц, BDI-IIIa-359Г, BDI-IIIa-269Г та BDI-IIIa-96A. Побудована за результатами SNP-аналізу дендрограма філогенетичних зв'язків ліній кукурудзи сучасного генфонду, які використовуються в селекційних програмах в зоні Степу України, вказує на близькість інформації за педігрі і SNP-аналізу, але виявляє генетичну гетерогенність усередині плазми Ланкастер.

Ключові слова: молекулярно-генетичні маркери, кукурудза, зародкова плазма Ланкастер, лінія, одонуклеотидний поліморфізм ДНК.

Вступ. Дослідження одонуклеотидного поліморфізму ДНК (SNP) широко застосовується для аналізу генетичних зв'язків між генотипами кукурудзи. SNP-аналіз використовується в програмах селекції сільськогосподарських культур, зокрема для дослідження генетичного різноманіття, встановлення генетичних дистанцій, ідентифікації сортів, побудови генетичних карт та пошуку функціональних маркерів фенотипових ознак тощо [1–3]. Так, при вивченні популяційної структури кукурудзи, характерної для Південно-західного Китаю, за допомогою SNP-маркерів було ідентифіковано декілька підгруп усередині відомих зародкових плазм. Відповідна тема є актуальною для впровадження у практику маркер-асоційованої селекції і при прогнозуванні гетерозису, виявленні варіювання частот алелей SNP-маркерів в групах ліній, адаптованих до різних кліматичних зон [4]. При аналізі 538 ліній кукурудзи міжнародного селекційного центру CIMMYT було визначено три адаптивні підгрупи: рівнинні тропічні, середньовисотні субтропічні та високогірні тропічні лінії, генетичне різноманіття яких за дослідженою авторами панеллю SNP-маркерів склало 0,31, 0,30 та 0,26, відповідно, а генетичні дистанції між даними трьома групами ліній склали 0,71, 0,70 та 0,69 [5]. SNP-маркери застосовують для маркування сільськогосподарських ознак, таких як колір стрижня качана та тип зернівки у кукурудзи [6], висота рослин та висота прикріплення качана, стійкість до афлатоксину *Aspergillus flavus* [7], посухостійкість [8].

В традиційній селекції кукурудзи відомою є типізація селекційного матеріалу за даними родоводів (педігрі).

Основними типами зародкової плазми культурної кукурудзи, які ведуть своє походження від стародавніх, однойменних сортів чи іншого селекційного матеріалу, є Ланкастер, Європейська кремениста або Лакон, Рейд, Айодент, Міндзенпуста та ін. [9, 10].

Найстародавніші вихідні пули зародкової плазми часто розділяються на підтипи в процесі селекції та створюють гетерозисні моделі. Аналіз зародкових плазм кукурудзи за SNP-маркерами зазвичай зводиться до визначення генетичного різноманіття популяцій з метою прогнозування гетерозису у схрещуваннях [5, 11, 12]. Разом з тим, маркування приналежності ліній до певного типу зародкової плазми за результатами SNP-генотипування є актуальним завданням для адекватного розподілу ліній за групами походження. Однак, методичні принципи визначення SNP-маркерів, алельний стан яких дозволяв би прогнозувати тип зародкової плазми, досі не сформовані. У зв'язку з цим нами було розроблено методичні підходи до визначення взаємозв'язку між алельним станом певних SNP-маркерів та приналежністю до зародкової плазми Ланкастер як однієї з перспективних для зони Степу України. Лінії кукурудзи плазми Ланкастер характеризуються високою селекційною пластичністю, що дозволило суттєво покращити добір за цінними господарськими ознаками, ранньостиглістю, посухостійкістю, значною врожайністю *per se*, а також високою комбінаційною здатністю, що робить їх перспективними для використання в програмах з гетерозисної селекції [13, 14].

Метою роботи була ідентифікація алелей SNP-маркерів, специфічних для ліній кукурудзи зародкової плазми Ланкастер порівняно з лініями-представниками інших зародкових плазм.

Матеріали і методи

Матеріалом для дослідження слугували 31 лінія кукурудзи (*Zea mays* L.) плазми Ланкастер, зокрема 29 перспективних ліній української селекції: ДК296МВ, ДК1129, ДК2668, ДК30233СЗМ, ДК3626, ДК6342, ДК29653СЗМ, ДК4263, ДКД9053, ДК267, ДКВ3451, ДК680МВ, ДК8143, ДК517МВ, ДК534зСзМ, ДК117зСМВ, ДК231зС, ДК6337зСзМ, ДК29533СЗМ, ДК366М, ДК3044, ДК633266МВ, ДК298зСзМ, ДК212МВ, ДК3070МВ, ДК633325МВ, ДК633, ДК427, ДК2980зСзМ та дві публічні лінії Мо17 та Oh43 — типові представники зародкової плазми Ланкастер. Досліджували також 60 ліній інших плазм, зокрема 23 лінії плазми Айодент, 15 ліній плазми Рейд (BSSS), 7 ліній плазми Єв-

ропейська кремениста (Лакон), лінії А188, Сhі31 та PLS61, які представляють однойменні плазми, та 12 ліній плазми Мікс (змішаної), неспорідненої з Ланкастер. Всі використані лінії створені в зоні Степу України (м. Дніпро). Приналежність ліній до того чи іншого типу зародкової плазми визначалася за даними педігрі. Лінії розмножували шляхом контрольованого штучного самозапилення.

SNP-генотипування ліній кукурудзи проводили шляхом аналізу одонуклеотидного поліморфізму за SNP-маркерами з використанням GoldenGate-тесту та системи зчитування результатів Illumina VeraCode [15–18] на базі фірми BioDiagnostics, Inc. (США).

Для кожної лінії на фільтрувальному папері пророщували по 10 насінин, відібраних за методом середньої проби, при 26 °С у темряві протягом тижня. ДНК виділяли з 7-добових проростків СТАВ-методом за [19]. Виділена ДНК наносилася на матрицю Sentrix array matrixe (SAM) обсягом у 96 зразків, з яких 94 представляли собою ДНК досліджуваних ліній, 2 — негативний контроль (вода). В роботі використана розроблена фірмою BioDiagnostics, Inc. (США) на основі Illumina VeraCodeBead Plate панель BDI-IIIa з 384 SNP-маркерами, які є біалельними, розташовані на всіх 10 хромосомах кукурудзи та мають ранг конструктивності >0,6 при можливому діапазоні 0–1. Ранг конструктивності >0,6 забезпечує ефективне використання SNP-маркерів в GoldenGate-тестуванні. Середній індекс інформативності використаних SNP-маркерів (PIC) знаходиться на рівні $0,31 \pm 0,01$ при можливому діапазоні варіювання 0–0,3750 [20]. SNP-генотипування зразків ДНК, закріплених на матриці SAM, з використанням GoldenGate тесту за 384 маркерами панелі BDI-IIIa проведено в повністю автоматизованому режимі на обладнанні Illumina BeadStation 500 G (Illumina, Inc., San Diego, CA, USA), укомплектованому пристроєм BeadReader для зчитування результатів детекції одонуклеотидного поліморфізму. SNP-генотипування та визначення сигналу флюоресценції для кожної лінії проводили у 30-разовій повторності для кожного маркера. Детекція флюоресценції нижче 0,25 не враховувалася і розглядалася як відсутність сигналу.

Для ідентифікації алелей SNP-маркерів, специфічних для ліній кукурудзи зародкової плазми Ланкастер порівняно з лініями-представниками інших зародкових плазм, на першому етапі за даними педігрі формували групу ліній, які належали до плазми Ланкастер (31 лінія), та групу ліній, які належали до інших поширених зародкових плазм

кукурудзи (60 ліній). Оскільки для подальшого проведення математичної обробки та порівняння частот алелей між цими двома групами ліній необхідним є визначення вихідної та похідної групи, вихідною групою умовно вважали лінії, неспоріднені з плазмою Ланкастер, а похідною — лінії групи Ланкастер. На наступному етапі проводили генотипування ліній за SNP-маркерами панелі BDI-IIIa, за результатами якого для кожної групи ліній, відносно кожного маркера визначали частоти мажорного та мінорного алелей. Далі за кожним маркером визначали достовірність порушення співвідношення частот мажорного і мінорного алелей між вихідною та похідною групами ліній за методом χ^2 [21] за рівня значущості 0,05 та відбирали маркери з $\chi^2_{\text{факт.}} \geq \chi^2_{\text{табл. 0,05}}$. Для кожного маркера, за яким було встановлено достовірне порушення співвідношення частот алелей, визначали різницю між частотою мажорного алеля у вихідній групі ліній та частотою цього ж алеля у похідній групі. Дана різниця позначена як «показник D» і наводиться за абсолютною величиною. За результатами проведеного аналізу прописували формулу алельного стану десяти маркерів з найбільшим значенням показника D (*top*-маркерів), найбільш специфічних для ліній групи Ланкастер. Статистичних аналіз отриманих даних проводили за [22]. Результати в таблицях представлені у вигляді $x \pm \Delta$, де x — середнє арифметичне, Δ — довірчий інтервал, розрахований як $\Delta = mt_{0,05}$, де m — похибка середнього арифметичного, $t_{0,05}$ — коефіцієнт Ст'юдента за рівня значущості 0,05. Дендрограму побудовано методом «дальнього сусіда» з використанням програмного забезпечення Statistica10.

Результати та обговорення

Для правомірного та ефективного використання інформації, отриманої при проведенні SNP-аналізу, необхідно враховувати низку вимог, які висуваються до репрезентативності SNP-маркерів в наборі зразків, що аналізується, згідно з [23]. Так, сигнал детекції алельного стану маркера повинен бути достатньої сили, частота пропущених даних не повинна перевищувати 20 %, якщо селекційний зразок заявлено як лінію, він не повинен містити гетерозиготні локуси. Серед SNP-маркерів панелі BDI-IIIa сигнал детекції достатньої сили для досліджених ліній отримано для 94,4 % маркерів. Для групи досліджених ліній виявлено 6 маркерів з перевищенням критичного рівня частоти пропущених даних у 20 %: BDI-IIIa-106, BDI-IIIa-109, BDI-IIIa-227, BDI-IIIa-285, BDI-IIIa-334 та BDI-IIIa-383. Ці маркери були вилучені з подальшого аналізу генетичного поліморфізму. Гетерозиготність дослідженого масиву ліній дорівнювала 0,7 % зразка на 1 маркер. У подальшому гетерозиготні локуси були вилучені з усіх видів розрахунків. Мономорфний стан в обох групах ліній виявили два SNP-маркери — BDI-IIIa-18 та BDI-IIIa-384.

В таблиці 1 представлено зміну частот алелей SNP-маркерів, які є мажорними у вихідній групі ліній (неланкастерівські плазми), при переході до похідної групи ліній (плазма Ланкастер).

Частоти мажорних алелей в групі ліній неланкастерівських плазм, представлені в таблиці 1, є високодостовірними, в той час як частоти всіх однопольових алелей в групі ліній Ланкастер були меншими за 0,5, а їх значна частина взагалі достовірно не відрізнялася від нуля. Це означає, що мажорним алелем маркерів, наведених в таблиці 1, для групи ліній Ланкастер будуть протилежні дезоксирибонуклеотиди кожного біалельного маркера.

Таблиця 1. Зміна частот алелей SNP-маркерів у ліній плазми Ланкастер порівняно з лініями інших плазм

SNP-маркер*	Частота мажорного алеля у групі ліній неланкастерівських плазм	Частота однойменного алеля у групі ліній плазми Ланкастер	D	$\chi^2_{\text{факт.}}$
332AG	A = 0,84 ± 0,10	A = 0,10 ± 0,11	0,74	41,5
151AG	Г = 0,75 ± 0,12	Г = 0,06 ± 0,09	0,69	34,4
256AG	Г = 0,88 ± 0,09	Г = 0,22 ± 0,14	0,66	32,9
331AT	A = 0,76 ± 0,12	A = 0,10 ± 0,11	0,66	30,9
335AЦ	A = 0,72 ± 0,12	A = 0,06 ± 0,09	0,66	30,2
185AЦ	A = 0,68 ± 0,12	A = 0,03 ± 0,06	0,65	30,3
343AG	Г = 0,83 ± 0,11	Г = 0,19 ± 0,15	0,64	26,0
181AЦ	A = 0,70 ± 0,12	A = 0,07 ± 0,09	0,63	27,9

Алельний стан SNP-маркерів, характерний для ліній кукурудзи плазми Ланкастер

SNP-маркер*	Частота мажорного алеля у групі ліній неланкастерівських плазм	Частота однойменного алеля у групі ліній плазми Ланкастер	D	$\chi^2_{\text{факт.}}$
288АЦ	Ц = 0,81 ± 0,10	Ц = 0,19 ± 0,14	0,62	28,0
190АТ	Т = 0,85 ± 0,09	Т = 0,23 ± 0,15	0,62	28,2
295АГ	А = 0,76 ± 0,12	А = 0,16 ± 0,13	0,60	25,3
348АГ	Г = 0,88 ± 0,09	Г = 0,28 ± 0,16	0,60	26,5
104ЦГ	Ц = 0,91 ± 0,07	Ц = 0,32 ± 0,17	0,59	32,3
83ЦГ	Г = 0,68 ± 0,12	Г = 0,10 ± 0,11	0,58	24,7
359АГ	А = 0,67 ± 0,13	А = 0,09 ± 0,11	0,58	23,5
294АГ	Г = 0,72 ± 0,12	Г = 0,16 ± 0,13	0,56	21,9
269АГ	А = 0,57 ± 0,13	А = 0,03 ± 0,06	0,54	21,0
173ЦГ	Г = 0,76 ± 0,11	Г = 0,22 ± 0,15	0,54	20,6
197АГ	А = 0,70 ± 0,12	А = 0,17 ± 0,14	0,53	20,1
96АГ	Г = 0,63 ± 0,13	Г = 0,10 ± 0,11	0,53	21,0
297АГ	Г = 0,54 ± 0,13	Г = 0,03 ± 0,06	0,51	21,6
154АЦ	А = 0,56 ± 0,13	А = 0,06 ± 0,09	0,50	18,0
122АГ	А = 0,53 ± 0,13	А = 0,03 ± 0,06	0,50	18,3
230АГ	А = 0,54 ± 0,13	А = 0,06 ± 0,09	0,48	17,0
91АГ	А = 0,57 ± 0,13	А = 0,09 ± 0,11	0,48	16,3
92АГ	А = 0,57 ± 0,13	А = 0,09 ± 0,11	0,48	16,3
105АГ	А = 0,57 ± 0,13	А = 0,10 ± 0,11	0,47	15,7
195АГ	А = 0,50 ± 0,13	А = 0,03 ± 0,06	0,47	16,6
120АГ	А = 0,54 ± 0,13	А = 0,10 ± 0,11	0,44	14,2
249АГ	А = 0,53 ± 0,13	А = 0,10 ± 0,11	0,43	13,6

Примітка: дані наведено для $D \geq 0,43$; * — представлено номер SNP-маркера панелі BDI-IIIa та його потенційні алелі; назви дезоксирибонуклеотидів подано за скороченими назвами азотистих основ: А — аденін, Т — тимін, Г — гуанін, Ц — цитозин;

$$\chi^2_{\text{табл. 0,05}} = 3,8.$$

Найбільша різниця між частотами однойменних алелей в двох групах ліній, на рівні $D = 0,74$, була отримана для маркера BDI-IIIa-332. Для SNP-маркерів, представлених в таблиці 1, діапазон частот мажорного алеля в групі неланкастерівських ліній склав 0,50–0,91. У ліній плазми Ланкастер частоти однойменних алелей цих же маркерів дорівнювали 0,03–0,32, що робить їх міноними, а відповідно, частоти мажорних алелей цих маркерів складатимуть 0,97–0,68. Для групи ліній Ланкастер суттєво відрізнятися від нуля частота алеля, який є мажорним в групі неланкастерівських ліній, стабільно починає при падінні D нижче 0,43. В діапазоні $D = 0,74$ –0,43, куди потрапляють 30 маркерів проаналізованої панелі, суттєво відрізняються від нуля в групі ліній Ланкастер частоти алелей, однойменних мажорним алелям вихідної групи, у десяти маркерів (на рівні 0,16–0,32).

Специфічний набір алелей плазми Ланкастер, визначений за частотами мажорного алеля 10 *top-SNP*-маркерів в попарному порівнянні з лініями інших зародкових плазм, за виключенням маркерів з частотою пропущених даних більше 20 % та маркерів з суттєвим значенням частоти алеля, який є мажорним в групі неланкастерівських ліній, може бути встановлений як BDI-IIIa-332Г, BDI-IIIa-151А, BDI-IIIa-331Т, BDI-IIIa-335Ц, BDI-IIIa-185Ц, BDI-IIIa-181Ц, BDI-IIIa-83Ц, BDI-IIIa-359Г, BDI-IIIa-269Г та BDI-IIIa-96А. Для цих *top*-маркерів ($D = 0,53$ –0,74) при порівнянні ліній плазми Ланкастер (похідна група) та неланкастерівських ліній (вихідна група) діапазон частот мажорного алеля в групі неланкастерівських ліній склав 0,57–0,84. У похідній групі ліній плазми Ланкастер частоти цих же алелей знизилися до 0,03–0,10. Ідентифікований набір алелей SNP-маркерів панелі BDI-IIIa, специфічних саме для ліній-представників зародкової плазми Ланкастер, може використовуватися у

визначенні приналежності генотипів кукурудзи до цього типу зародкової плазми, походження ліній, ступеня спорідненості ліній між собою, підборі батьківських пар для отримання високогетерозисних гібридів.

При аналізі стану SNP-маркерів використаної панелі нами було ідентифіковано маркери з рідкісними алелями, тобто алелями з низькою частотою зустрічальності. Серед них представляють інтерес маркери, які дозволили ідентифікувати пропущені та унікальні алелі. Пропущені алелі — це алелі, які зовсім відсутні в одній групі ліній, але зустрічаються у іншій групі, де вони виступають як унікальні. Фактично, маркери з пропущеними алелями в групі ліній, в якій вони виявляються, стають мономорфними. Унікальні алелі у протилежній групі ліній зустрічаються, як правило, з низькою частотою. В нашому дослідженні було ідентифіковано 16 SNP-маркерів з пропущеними алелями в групі Ланкастер і, відповідно, унікальними в групі неланкастерівських ліній, середня частота яких склала 0,2067. Так, алель А за маркером 11АГ зовсім не спостерігався у групі ліній Ланкастер, а в групі неланкастерівських ліній траплявся з частотою 0,0339 і був присутній в геномах ліній В73 і ДК2346 плазми Рейд. Алель А також був пропущеним в групі ліній Ланкастер для маркерів 32АГ, 54АЦ, 99АГ, 100АГ, 102АГ, 266АГ та 356АГ. Протилежна група ліній містила алель А з частотою за маркерами 32АГ — 0,1930 (7 ліній плазми Рейд, 1 — Лакон, 1 — Айодент та 2 — Мікс), 54АЦ — 0,2909 (4 лінії плазми Рейд, 4 — Лакон, 5 — Айодент, 1 — Мікс, 1 — А188 та 1 — Chi31), 99АГ — 0,2881 (8 ліній плазми Рейд, 4 — Лакон та 5 — Мікс), 100АГ — 0,1695 (5 ліній плазми Рейд, 1 — Айодент, 1 — Мікс, 1 — А188, 1 — Chi31 та 1 — PLS61), 102АГ — 0,1525 (4 лінії плазми Рейд, 1 — Айодент, 1 — Мікс, 1 — А188, 1 — Chi31 та 1 — PLS61), 266АГ — 0,2203 (8 ліній плазми Рейд, 1 — Лакон, 3 — Мікс та 1 — PLS61) та 356АГ — 0,4068 (5 ліній плазми Рейд, 4 — Лакон, 10 — Айодент та 5 — Мікс). Пропущений у лінії Ланкастер і унікальний для неланкастерівських ліній алель Ц виявлявся з частотою 0,3220 за маркером 267АЦ (у 12 ліній плазми Рейд, 1 — Лакон, 5 — Мікс та 1 — PLS61) та з частотою 0,1356 за маркером 372ЦГ (у 5 ліній плазми Рейд і 3 ліній плазми Мікс). Алель Г був унікальним у ліній неланкастерівських плазм за наступними маркерами і з такими частотами: 69АГ — 0,2414 (у 2 ліній

плазми Рейд, 1 — Лакон, 6 — Айодент та 5 — Мікс), 124ЦГ — 0,2034 (у 5 ліній плазми Рейд, 4 — Лакон та 3 — Мікс), 188АГ — 0,4211 (4 ліній плазми Рейд, 1 — Лакон, 16 — Айодент та 3 — Мікс), 189АГ — 0,0345 (лінії ДК3642 та В73 плазми Рейд), 268АГ — 0,0339 (у лінії ДК2377зМ плазми Рейд та лінії А188 однойменної плазми), 342ЦГ — 0,1633 (у 5 ліній плазми Рейд, 1 — Мікс, 1 — Chi31 та 1 — PLS61). Пропущених алелей Т не виявлено. Ідентифіковані пропущені алелі в групі ліній Ланкастер та відповідні унікальні алелі для ліній неланкастерівських плазм можуть бути використані як додаткові маркери ланкастерівського чи неланкастерівського походження генотипу. Доцільно також у майбутньому дослідити зв'язок унікальних алелей з фенотиповими особливостями певного типу зародкової плазми.

На рисунку 1 представлено дендрограму філогенетичних зв'язків 91 лінії кукурудзи, побудовану методом «дальнього сусіда» за результатами SNP-аналізу [24], де виділяються два основні кластери. Як видно, 88 ліній (96,7 %) входять до кластера 1 і лише 3 лінії (3,3 %), ДКД2725СВзМ, PLS61 та В73, — до кластера 2. Кластер 1 розпадається на два підкластери, верхній 1.1 та нижній 1.2. Всі проаналізовані лінії, які за родоводом визначаються як Ланкастер, а також частина ліній неланкастерівських плазм, потрапляють в підкластер 1.1, всього 57 ліній. В підкластер 1.2 попадає 31 лінія, неспоріднена з Ланкастер. Підкластер 1.1 розпадається в свою чергу на 2 підпідкластери: 1.1.1 (верхній), до якого входять 25 ліній, та 1.1.2 (нижній), до якого входять 32 лінії. Характерно, що всі лінії, які об'єднує підпідкластер 1.1.1, за педігрі відносяться до плазми Ланкастер, зокрема, публічна лінія Мо17, яка є типовим представником підплазми Мо17. Підпідкластер 1.1.2 містить типового представника іншої підплазми плазми Ланкастер — лінію Oh43, а також 5 ліній, які вважаються Ланкастер за родоводом, що складає 18,8 % від загального об'єму цього підпідкластера. Таким чином, в цілому побудована дендрограма вказує на близькість інформації родоводів і SNP-аналізу стосовно філогенетичних зв'язків досліджених ліній кукурудзи. Але результати свідчать і про певні істотні відмінності у ліній, близьких до Oh43, порівняно з лініями підпідкластеру 1.1.1, близьких до Мо17, що свідчить про генетичну гетерогенність усередині самої плазми Ланкастер.

Алельний стан SNP-маркерів, характерний для ліній кукурудзи плазми Ланкастер

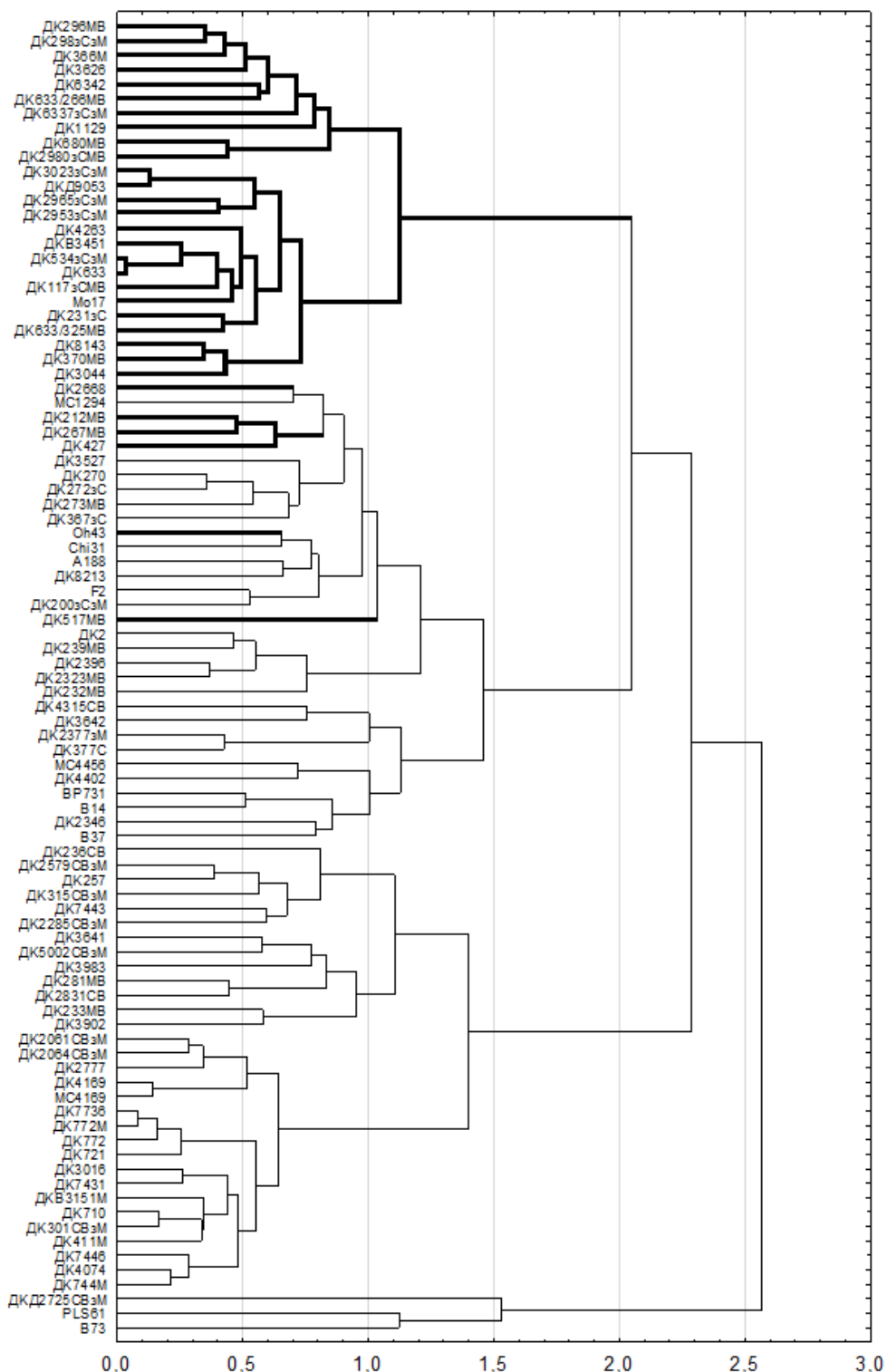


Рисунок 1. Дендрограма філогенетичних зв'язків за результатами SNP-аналізу для 91 ліній кукурудзи, побудована за методом «дального сусіда»

Висновки

В результаті проведеного дослідження ідентифіковано SNP-маркери панелі BDI-IIIa, які можна використовувати для диференціації ліній кукурудзи зародкової плазми Ланкастер серед інших плазм. Набір алелей SNP-маркерів панелі BDI-IIIa, специфічний для ліній плазми Ланкастер, визначений за частотами мажорного алеля в попарному порівнянні з лініями інших зародкових плазм, встановлений як BDI-IIIa-332Г, BDI-IIIa-151A, BDI-IIIa-331Т, BDI-IIIa-335Ц, BDI-IIIa-185Ц, BDI-IIIa-181Ц, BDI-IIIa-83Ц, BDI-IIIa-359Г, BDI-IIIa-269Г та BDI-IIIa-96A. Ідентифіковано пропущені в групі ліній Ланкастер та унікальні для неланкастерівських ліній алелі за 16 SNP-маркерами. Побудована за результатами SNP-аналізу дендрограма філогенетичних зв'язків ліній кукурудзи сучасного селекційного генофонду, які використовуються в селекційних програмах в зоні Степу України, вказує на близькість інформації за педігрі і SNP-аналізу стосовно ліній плазми Ланкастер, але виявляє генетичну гетерогенність усередині цієї плазми.

Перелік літератури

1. Сатарова Т. М., Дзюбецький Б. В., Черчель В. Ю. та ін. SNP-аналіз у паспортизації та ідентифікації ліній кукурудзи // Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин. — 2014. — № 3. — С. 4–9.
2. Richard C., Osiru D. S., Mwala M. S., Lubberstedt T. Genetic diversity and heterotic grouping of the core set of southern African and temperate maize (*Zea mays* L.) inbred lines using SNP markers // *Maydica*. — 2016. — № 61. — P. 1–9.
3. Šimic D., Ledencan T., Jambrović A. et al. SNP and SSR marker analysis and mapping of a maize population // *Genetika*. — 2009. — Vol. 41, № 3. — P. 237–246.
4. Zhang X., Zhang H., Li L. et al. Characterizing the population structure and genetic diversity of maize breeding germplasm in Southwest China using genomewide SNP markers // *BMC Genomics*. — 2016. — № 17 (697). — P. 1–16.
5. Wu Y., Vicente F. S., Huang K. et al. Molecular characterization of CIMMYT maize inbred lines with genotyping by sequencing SNPs // *Theor. Appl. Genet.* — 2016. — № 129. — P. 753–765.
6. Борисова В. В. Селекційні аспекти застосування SNP-аналізу у кукурудзи : дис. ... канд. біол. наук: 06.01.05 / Борисова Вікторія Вікторівна ; ДУ Інститут сільського господарства степової зони НААН України — Дніпропетровськ, 2015. — 230 с.
7. Farfan I. D. B., De La Fuente G. N., Murray S. C. et al. Genome wide association study for drought, aflatoxin resistance, and important agronomic traits of maize hybrids in the Sub-Tropics // *PLoS ONE*. — 2015. — Vol. 10 (2). — P. 1–30.
8. Thirunavukkarasu N., Hossain F., Arora K. et al. Functional mechanisms of drought tolerance in subtropical maize (*Zea mays* L.) identified using genome-wide association mapping // *BMC Genomics*. — 2014. — Vol. 15 (1182). — P. 1–12.
9. Соколов В. М., Вареник Б. Ф., Пилюгин А. С., Гужва Д. В. Селекционная оценка элитных самоопыленных линий кукурузы из основных гетерозисных групп зародышевой плазмы // *Генетика, селекция и технология возделывания кукурузы*. — Краснодар : Майкоп РИПО «Адыгея». — 1999. — С. 92–96.
10. Troyer A. F. Temperate corn background, behavior, and breeding. — CRC Press, 2000. — 468 p.
11. Mhoswa L., Derera J., Qwabe F. N. P., Musimwa T. R. Diversity and path coefficient analysis of Southern African maize hybrids // *Chilean J. Agric. Res.* — 2016. — № 76 (2). — P. 143–151.
12. Nyombayire A., Derera J., Sibiya J. et al. Genetic diversity among maize inbred lines selected for the mid-altitudes and highlands of Rwanda // *Maydica*. — 2016. — № 61. — P. 1–7.
13. Деркач К. В., Абраїмова О. Є., Сатарова Т. М. Регуляція морфогенезу *in vitro* у ліній кукурудзи групи Ланкастер // *Вісник Дніпропетровського університету. Серія Біологія. Екологія*. — 2016. — Т. 24, № 1. — С. 253–257.
14. Дзюбецький Б. В., Федько М. М., Боденко Н. А. Отримання та оцінка нових інбредних ліній кукурудзи (*Zea mays* L.), споріднених з геноплазмою Lancaster // *Вісник аграрної науки*. — 2015. — № 1. — С. 46–50.
15. Fan J. B., Gundersson K. L., Bibikova M. et al. Illumina universal bead arrays // *Methods Enzymol.* — 2006. — Vol. 410. — P. 57–73.
16. *illumina*® [Електронний ресурс]. — Режим доступу : <http://www.illumina.com>. — Назва з екрана.
17. *illuminaGo/Gate*® Genotyping Assay for VeraCode® Manual Protocol [Електронний ресурс]. — Режим доступу : http://supportres.illumina.com/documents/myillumina/5cdc02d3-024d-43b5-b1aa8e22390fa5a/goldengate_gt_for_veracode_man_euc_11312755_reva.pdf. — Назва з екрана.
18. Venkatramana P., Carlson C., Blackstad M. et al. Development and characterization of single nucleotide polymorphism (SNP) panel for markers-assisted backcrossing in corn // *Abstracts from AOSA/SCST Meeting*. — 2012. — Vol. 32, No 2. — P. 153.
19. QIAMP DNA Mini and Blood Mini Handbook EN [Електронний ресурс]. — Режим доступу : www.qiagen.com/resources. — Назва з екрана.
20. Weng J., Li B., Liu Ch. et al. A non-synonymous SNP within the isopentenyl transferase 2 locus is associated with kernel weight in Chinese maize inbreds (*Zea mays* L.) // *BMC Plant Biol.* — 2013. — Vol. 13. — P. 1–11.
21. Лакін Г. Ф. Биометрия. — М. : Высш. шк., 1990. — 352 с.
22. Welham S. J., Gezan S. A., Clark S. J., Mead A. Statistical methods in biology: design and analysis of experiments and regression. — Boca Raton : CRC Press, 2014. — 608 p.
23. Lu Y., Yan J., Guimarães C. T. et al. Molecular characterization of global maize breeding germplasm based on genome-wide single nucleotide polymorphisms // *Theor. Appl. Genet.* — 2009. — Vol. 120. — P. 93–115.
24. Сиволап Ю. М., Кожухова Н. Э., Календарь П. Н. Вариативность и специфичность геномов сельскохозяйственных растений. — Одесса : Астропринт, 2011. — 336 с.

Представлено В. А. Кунахом
Надійшла 01.03.2017

**THE ALLELIC STATE OF SNP-MARKERS,
SPECIFIC FOR LANCASTER GERMPLASM
MAIZE INBREDS**

*K. V. Derkach, T. M. Satarova, V. V. Borisova,
V. Yu. Cherchel*

Institute of Grain Crops of NAAS of Ukraine
Ukraine, 49027, Dnipro, V. Vernadsky str., 14
e-mail: satarova2008@ukr.net, kvderkach@gmail.com

Aim. To identify the alleles of SNP-markers specific for Lancaster germplasm maize inbreds, in comparison with inbreds of other germplasms. **Methods.** Analysis of single nucleotide polymorphism of DNA on 384 SNP-markers of BDI-IIIa panel with GoldenGate-test and reading system Illumina VeraCode. **Results.** The greatest difference between the frequencies of the same alleles in two groups of lines, on the level of $D = 0,74$, was fixed for SNP-marker BDI-IIIa-332. For markers which were selected according to ranking at $D = 0,53-0,74$ the range of

frequencies of major alleles in the group of nonLancaster lines was 0,57–0,84. In the group of Lancaster lines frequencies of the same alleles decreased to 0,03–0,10. Missing alleles in the group of Lancaster lines and unique ones in nonLancaster lines for 16 SNP markers were identified. **Conclusions.** Allele composition of SNP-markers of BDI-IIIa panel specific for Lancaster germplasm was defined as BDI-IIIa-332G, BDI-IIIa-151A, BDI-IIIa-331T, BDI-IIIa-335C, BDI-IIIa-185C, BDI-IIIa-181C, BDI-IIIa-83C, BDI-IIIa-359G, BDI-IIIa-269G and BDI-IIIa-96A. Dendrogram of phylogenetic relationships between maize lines of modern gene pool from breeding programs used in the Steppe zone of Ukraine based on the results of SNP-analysis indicates the closeness of the information on pedigree and SNP-analysis, but identifies genetic heterogeneity within Lancaster germplasm.

Keywords: molecular markers, maize, Lancaster germplasm, line, single nucleotide polymorphism of DNA.