

## ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДНК-МАРКЕРОВ РИСА В ИЗУЧЕНИИ ВНУТРИВИДОВОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЗЛАКОВ (НА ПРИМЕРЕ ЗЕРНОВОГО СОРГО)\*

П. П. Стрельченко, О. И. Романова, К. Окуно

Выяснение структуры внутривидового генетического разнообразия культурных растений представляет интерес для выяснения путей их эволюции, оптимизации процесса управления коллекциями *ex situ* и подбора исходного материала в селекции. В анализе генетического разнообразия злаков наиболее широко используются белковые (главным образом запасные белки семян и изоферменты) и преимущественно анонимные ДНК-маркеры (PDRF, RAPD, AFLP, SSR, SNP). Для решения этой задачи в нашей работе мы предлагаем применять маркеры, разработанные на основе последовательностей ДНК определенных генов. Такой подход мы использовали для изучения генетического разнообразия зернового сорго с помощью STS- и InDel-маркеров, которые предложены для различения генотипов риса. Выявлено три основных центра генетического разнообразия сорго, два из которых связаны с Африкой, а третий — с регионами Центральной, Восточной и Южной Азии.

**Ключевые слова:** *Sorghum bicolor*, генетические ресурсы, ДНК-маркеры.

### *Biochemistry and molecular biology*

#### USEFULNESS OF RICE DNA MARKERS FOR DEFINING OF GRASSES INTRASPECIES GENETIC DIVERSITY USING GRAIN SORGHUM AS A MODEL

P. P. Strel'chenko, O. I. Romanova, K. Okuno

Information about crops intraspecies genetic diversity is important for defining of the ways of its evolution, improving of the *ex situ* collections management and selection of initial sources for the crops breeding. In the analyses of grasses genetic diversity mainly proteins markers (seed proteins and isozymes) or largely anonymous DNA markers (PDRF, RAPD, AFLP, SSR, SNP) has been used. Alternatively we suggest to use the DNA markers developed from the sequences of the certain genes. Using such approach we studied grain sorghum genetic diversity taking in the analysis STS- and InDel markers developed for distinguishing of rice genotypes. Three principal global centres of grain sorghum genetic diversity were identified in the work. Two of these were connected with Africa. The third centre has been formed in Central, East and South Asian regions.

**Keywords:** *Sorghum bicolor*, genetic resources, DNA-markers.

### Введение

Семейство злаков включает около 10 тыс. видов растений. Среди них наиболее значимыми являются зерновые хлебные злаки (пшеница и рожь), а также зерновые злаки более широкого использования (кукуруза, рис, ячмень, овес, сорго, просо и др.). Все эти виды культурных растений были освоены человеком тысячи лет назад местной селекцией земледельцами Старого и Нового Света. Дальнейший процесс формирования культур в ходе их распространения по регионам с различными почвенно-климатическими условиями проходил под действием как искусственного, так и естественного отбора и привел к наличию у них весьма большого эколого-географического и сортового разнообразия, ко-

торое до сих пор трудно поддается классификации. В то же время информация о генетическом разнообразии культурных растений имеет первостепенное значение как для совершенствования стратегии их эффективного сохранения *ex situ* и целенаправленного расширения генетической изменчивости в коллекциях, так и для определения путей использования коллекций в селекции.

В оценке генетического разнообразия растений широко применяется анализ родословных сортов, изучение комплексов морфологических и хозяйственно ценных признаков, а также полиморфных белковых систем. В молекулярной генетике разработан целый ряд подходов, позволяющих с высокой точностью выявлять полиморфизм растений непосредственно по структуре их ДНК. Следует отметить, что ДНК-маркеры не подвержены влиянию среды, поэтому могут быть включены в анализ на любой фазе развития растения. В исследованиях чаще всего используются анонимные

\* Работа выполнена при финансовой поддержке Японского общества развития науки (Japan Society for Promotion of Science, JSPS, <http://www.jsps.go.jp>).

маркеры, основанные на применении различных ДНК-технологий (блот-гибридизации, полимеразной цепной реакции и ДНК-чипов): PDRF-, RAPD-, AFLP-, SSR- и SNP-маркеры. Несмотря на то что изучаемые ими локусы могут быть картированы в хромосомах растений, они, как правило, не входят в состав транскрибируемых последовательностей ДНК. Последние в геномах злаков составляют лишь незначительную часть, а функциональная и эволюционная значимость нетранскрибируемых последовательностей — неясна, учитывая также слабую изученность протяженных последовательностей геномов. Недавно в решении этой проблемы наметился определенный прогресс: международный коллектив исследователей опубликовал результаты изучения полной последовательности генома риса [1]. Пока это единственный вид злаков (и вообще однодольных растений), у которого известна полная структура генома. На основе результатов, полученных в этой и последующих работах, была построена база данных (Rice Annotation Project Database), которая имеется в свободном доступе (RAP-DB, <http://rapdb.dna.affrc.go.jp>). В ряде работ показан высокий уровень синтении между геномами злаков (сходство по порядку расположения в хромосомах генов и различных маркеров) [2, 3]. Кроме этого, выявлено большое сходство по первичным последовательностям генов этих видов, даже таких давно дивергировавших, как рис и сорго [4]. Исходя из этих данных, мы предположили, что ДНК-маркеры, разработанные для различения генотипов риса, могут быть эффективны в изучении генотипического разнообразия других видов злаков.

В Государственном институте агробиологических наук (Цукуба, Япония) созданы наборы STS- и InDel-маркеров [5], которые успешно используются в популяционных и генетических исследованиях риса. STS- (или точнее cDNA-STS-) маркеры были разработаны на основе последовательностей кДНК риса, а InDel-маркеры — на основе данных Шена с соотр. [6], полученных сравнительным анализом геномных последовательностей разных сортов риса. В качестве объекта в нашей работе мы использовали зерновое сорго — *Sorghum bicolor* (L.) Moench.

В настоящей работе мы попытались изучить возможности применения разработанных в Цукубе ДНК-маркеров для анализа генетического разнообразия сорго.

Были поставлены следующие задачи:

1) из имеющихся в наличии наборов рисовых STS- и InDel-маркеров отобрать те, которые выявляют различия между образцами сорго различного географического происхождения;

2) с использованием отобранных маркеров проанализировать 48 сортов сорго различного географического происхождения и с применением методов многомерной статистики изучить внутривидовую генетическую дифференциацию зернового сорго.

## Методы исследования

Из 31 изученного азиатского сорта сорго (табл. 1) 13, 11 и 7 сортов происходили из стран Центральной, Южной и Восточной Азии соответственно; из различных стран Африки было изучено 17 сортов; из коллекции сорго ВИР было отобрано 12 образцов, собранных экспедициями института в 1925 – 1970 гг. в странах Центральной Азии. Все остальные сорта были предоставлены Генбанком Государственного института агробиологических наук (Цукуба, Япония).

Для выделения ДНК использовали фрагменты листьев молодых растений, собранных через 3 – 4 недели после посева в поле в Цукубе. Каждый образец был представлен одним генотипом (одним растением). ДНК для анализа выделяли из высушенного силикагелем листового материала микрометодом с использованием бромистого гексадецилтриметиламмония (СТАВ) [7]. Для этого 10 – 15 мг материала размалывали на качалке с использованием циркониевых шариков в пробирках типа Эппендорф. К образцам добавляли по 0,75 мл экстракционного буфера, содержащего 1 % СТАВ, 50 мМ трис-НСl pH 8,0, 10 мМ ЭДТА, 0,7 М NaCl, 0,1 % SDS, 0,1 мг/мл протеиназы К, 2 % нерастворимого PVP и 2 % 2-меркаптоэтанола. После инкубации при 65°C в течение 60 мин в пробирки добавляли по 0,75 мл смеси хлороформ – изоамиловый спирт (24:1 по объему), встряхивали на качалке в течение 30 мин, а затем центрифугировали при 10 тыс. об./мин при 18 °C в течение 10 мин. Надосадочную жидкость переносили в чистые пробирки, добавляли 0,5 мл изопропанола и центрифугировали при 10 тыс. об./мин при 4 °C в течение 10 мин. ДНК дважды промывали в 1 мл 70 % этанола, растворяли в 50 мкл 1/10 ТЕ буфера, содержащего РНКазу А, инкубировали в течение ночи при 42 °C и затем хранили при 4 °C. Концентрацию ДНК определяли на спектрофотометре NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific) и доводили деионизированной водой до рабочей концентрации 5 нг/мкл.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в конечном объеме 10 мкл, который содержал: 2 мкл ДНК, 1 мкл 10 × ПЦР буфера, 1 мкл смеси дНТФ, 0,2 ед. Taq-полимеразы (TAKARA BIO INC), 1,5 мкл смеси прямого и обратного праймеров (по 10 пМ/мкл каждого) и 4,5 мкл деионизированной воды. ПЦР проводили в термоциклере iCycler (Bio-Rad) по следующей схеме: сначала ДНК денатурировали в течение 3 мин при 98 °C, затем осуществляли 30 циклов амплификации (10 с при 98 °C, 30 с при 55 – 60 °C в зависимости от праймера, 30 с при 72 °C), заключительный синтез продуктов проводили в течение 7 мин при 72 °C. Продукты амплификации анализировали в пластинах 3 % агарозного геля в 0,5 × TBE буфере (44 мМ трис-борат pH 8,3, 1 мМ ЭДТА) при 150 В в течение примерно 1,5 ч. После электрофореза амплифицированные фрагменты в гелях окрашивали в растворе 0,5 мкг/мл бромистого этидия и документировали в проходящем ультрафиолетовом свете. Близкие по длине ПЦР продукты анализировали капиллярным электрофорезом в

системе HDA-GT12 (eGene Inc.) в соответствии с рекомендациями производителя.

Аmplифицированные фрагменты ДНК разной длины при составлении бинарной матрицы исходных данных кодировали цифрами 1 или 0. На основе исходной матрицы данных строили матрицу коэффициентов сходства Simple Matching. Последнюю использовали для кластеризации сортов методом UPGMA и анализа

методом главных осей. Все расчеты и графические построения проводили с использованием пакета статистических программ NTSYS 2,0.

## Результаты и обсуждение

Изначально в работе был использован набор из 166 маркеров, который включал 128 STS- и 38 InDel-маркеров. В экспериментальном плане каждый маркер пред-

Таблица 1. Изученные сорта сорго и их происхождение

№ п/п	Континент	Субконтинент	№ по каталогу*	Сорт	Страна происхождения	
1	Азия	Центральная	49005	PI 220636 Q 2/3/56	Афганистан	
2			<u>830</u>	Джугара	Западный Китай	
3			<u>5098</u>	Джугара	Северный Пакистан	
4			<u>638</u>	Джугара	Туркмения	
5			<u>1120</u>	Джугара красная	Туркмения	
6			<u>1278</u>	Джугара белая	Туркмения	
7			<u>1299</u>	Джугара непоникающая	Туркмения	
8			<u>1149</u>	Ак-Джугара	Узбекистан	
9			<u>1296</u>	Джугара белая (Матхаир)	Узбекистан	
10			<u>1313</u>	Сорго красное	Узбекистан	
11			<u>2313</u>	Джугара белая	Узбекистан	
12			<u>2361</u>	Джугара	Узбекистан	
13			<u>4531</u>	Теке Джугара Кизил	Узбекистан	
14			Южная	48530	Allakh	Бангладеш
15		480		Hazera 6014	Израиль	
16		297		Mariangarjora Muddahihal	Индия	
17		401		Rabi Yangar Jora Mithugadur	Индия	
18		48881		PI 229486 Vulgare	Иран	
19		377		Battanban	Камбоджа	
20		48466		AS 5781 Huan Sa Phaung Ah Lpysu	Мьянма	
21		48531		EC 18868	Непал	
22		48532		Junelo	Непал	
23		—		87-9-21-3-2 (Pakistan)	Пакистан	
24		119513		COL/PAK/1991/IBPGR/2724(2)	Пакистан	
25		Восточная		48458	Ai Hui	Китай
26				91317	Nuo Gao Liang	Китай
27				45437	Moctac Local	Корея
28				—	2-8-13 (Pingdon, Taiwan) Waxy	Тайвань
29				45423	Himeki Zairai	Япония
30				119448	Takakimi	Япония
31			119461	Tokibi	Япония	
32	Африка	48543	MN 401	Алжир		
33		490	Aklmoi White	Кения		
34		81250	PI 152748 C	Кения		
35		76742	Tenant White	Лесото		
36		76744	Makhotlong I	Лесото		
37		48544	Ait Brahim	Марокко		
38		48545	Cody	Марокко		
39		48546	Kourniania	Марокко		
40		48550	Schrock	Марокко		
41		48759	KA 24	Нигерия		
42		48631	E 37	Танзания		
43		48615	Uganda L1	Уганда		
44		48619	<i>S. vulgare</i> 72-728-1	Уганда		
45		260	Moraba 74	Эфиопия		
46		48612	Giza 3/59	Эфиопия		
47		519	AW 70/12 DL/59/1532	ЮАР		
48		522	Ear From Pietersburg DL/60/107	ЮАР		

\* Подчеркнуты номера по каталогу ВИР, остальные номера даны по каталогу генбанка Государственного института агробиологических наук (NIAS, Цукуба, Япония).

ставляет собой компонент электрофоретического спектра фрагментов ДНК, полученных при амплификации с двумя олигонуклеотидными праймерами, которые идентичны определенным уникальным последовательностям генома риса. Как правило, эти праймеры обеспечивают амплификацию с ДНК риса участка идентифицированного гена размером 120 – 700 п.н., который различается по длине у разных сортов. Каждая из 166 пар праймеров была использована для ПЦР с ДНК шести генотипов сорго, происходящих из различных регионов Азии и Африки. Большинство из примененных пар праймеров либо не обеспечивали синтеза ПЦР продуктов (в соответствующем гене сорго произошла мутация, которая привела к изменению последовательности идентичной, по крайней мере, одному из праймеров), либо продукты были идентичны у всех генотипов (консервативные гены), либо продукты представляли собой смесь фрагментов разной длины (возможно, это связано с дупликацией в геноме сорго последовательности идентичной, по крайней мере, одному из праймеров). В результате этого анализа было отобрано 14 STS- и 10 InDel-маркеров (табл. 2), которые выявляли различия между изученными генотипами сорго. Эти маркеры четко выявляли единичные локусы, локализованные в 10 из 12 хромосом генома риса (за исключением хромосом 6 и 10). Все они были идентифицированы в геноме риса с использованием базы данных RAP-DB по последовательностям как прямого, так и обратного праймеров. Из 24 отобранных пар праймеров 20 пар обеспечивали синтез участков 27 генов белков с различной категорией их идентификации. Так, 3 гена были идентичны известным белкам риса, 12 генов — подобны извест-

ным белкам риса, 6 генов имели последовательности белковых доменов информационного ресурса InterPro [8], 5 генов законсервированных гипотетических белков и 1 ген гипотетического белка (табл. 3). Большинство этих белков входят в состав ключевых ферментативных комплексов клеточного метаболизма и имеют участки связывания АТФ, ФАД, НАД, цинка и кальция. Вероятно, эти комплексы играют важную роль в адаптации и внутривидовой дифференциации растений. Интересно, что среди идентифицированных генов были также гены стресс-индуцибельных белков: белки теплового шока и белки, индуцируемые патогенозом. Таким образом, результаты нашей работы указывают на возможности использования ДНК-маркеров риса для различения генотипов сорго различного географического происхождения.

На следующем этапе работы проведен анализ 48 генотипов сорго различного географического происхождения со всеми 24 парами праймеров. При этом выявлено два типа полиморфизма. Для 18 пар было выявлено наличие или отсутствие продукта амплификации одного и того же размера. Это свидетельствует в пользу того, что в соответствующем гене отдельных генотипов сорго произошла мутация, которая привела к изменению последовательности, идентичной, по крайней мере, одному из праймеров. Остальные шесть пар праймеров амплифицировали у разных генотипов фрагменты ДНК разной длины (величины длин этих фрагментов, полученных с ДНК сорго, подчеркнуты в табл. 3). Используемые пары праймеров амплифицировали в геноме риса сорта Nipponbare фрагменты ДНК размером от 150 до 248 п.н. (табл. 3). В анализе 48

Таблица 2. Маркеры риса, использованные в анализе 48 образцов сорго

№ п/п	Маркер	Хромосома	Вид маркера	Прямой праймер	Обратный праймер
1	E20660	1	STS	CCAAAGCCGAGGAGAAGAAG	AAGGCCTTCTGGTTCATGAG
2	R494	1	STS	TGGAGACGTCGTCTGACCTC	AACGAGAGAACATCCCCTCG
3	S13528	1	STS	AGCACATTCGGCAGTTTCTC	GCACGCCATACAACAGCCTC
4	S13654	1	STS	CAGACACGCCAGGTTTGATG	AGAATGCCACACCAACAATG
5	18-49	1	InDel	GATGGTTTGGCTCCGTGGTA	CGCCAAAACCTTTTCGTCTCG
6	C53493	2	STS	AGTGGGGGAAGGAGACGGAC	TTGTGCACGGGCTTAATCAG
7	E3902	2	STS	TTGCTGCTACTGCGAAGAAG	TGGATACAGAGATGCACGAG
8	C63279	3	STS	TCAAGTCCATCCAGATCACC	TGAGACAACAGGTTTTACCG
9	E522	3	STS	CTCGTGTCAAAAATCGGCGTG	CAGCCTTGACGTCGTTGTTT
10	E11757	3	STS	AGCATCCTCCTCTCCGACTC	AAAATAGCAAGGCAAAGTGG
11	06-42	3	InDel	TTCAAACCTCAGTGCTGCAA	CTCCGTAGGCCTTGGTGTTA
12	C11112	4	STS	CCAGCAACAGGGGATGAAGC	CAGGCATAAAACGGAGTGCC
13	C52717	5	STS	CCGTGGATTCAAGGTCTAAG	AACATTGTCTTCTTGCCAC
14	10-33	7	InDel	TCGTAGCAGTGATCGTGAGG	TGATATGCTTTCCCGACACA
15	C61344	8	STS	CGCTGATTATGAGAGTGGTG	AGATGCTTGAGGGCTTGAAC
16	15-19	8	InDel	TCGATCGATCCAGTCCCAAA	CGCGGCATCATTATGAACA
17	07-14	9	InDel	CCATGATCAAACCACACAGC	TGTCAGGGCACCATGACTTA
18	07-19	9	InDel	TATACGCGAGCGCTCTTACC	TGTATTCGGATGTTGCCAAG
19	C30194	11	STS	TGTATGAAGGACATATGCC	AAACTACACACATCCAAACC
20	03-14	11	InDel	GTCTTCGCCGCCACCTTCCA	CGCCGCCCCGAATCGAG
21	07-33	11	InDel	AAACTTCCCAACCCTCCAAC	GCGCAACAACGAACAGATA
22	RZ869	12	STS	TATCAATCACCCCAACCTC	TTTTGGTATTTGCTGCATGG
23	12-17	12	InDel	ACCGTAGCGTTAGCATGGAC	ACTACGAGAATGCGGTGCTT
24	13-12	12	InDel	CAGAGAAATGGAAGGCATTTGG	TGACGAGCGTAGTTGCATGTC

генотипов сорго всего учитывали 32 фрагмента (компонента электрофоретического спектра). Для 20 маркеров были выявлены однокомпонентные спектры, поэтому можно предположить, что изученные локусы генома сорго ортологичны соответствующим локусам генома риса. Поскольку у сорго эти локусы чаще всего более протяженны, а его геном почти в два раза больше генома риса, можно предположить, что мутаций типа инсещий или дупликаций в ходе эволюции генов возникали чаще в геноме сорго.

Бинарная матрица данных, полученная для набора из 48 генотипов сорго с использованием 14 STS- и 10 InDel-маркеров приведена в табл. 4. Частота определенных фрагментов амплификации варьировала от 0,10 до 0,98. В среднем по всей матрице она составила 0,56. Каждый генотип был охарактеризован по наличию или отсутствию 15 – 22 продуктов ПЦР. Полное сходство по набору этих продуктов выявлено только для двух генотипов (№ 1 и 12 из Афганистана и Узбекистана соответственно). Конечную бинарную матрицу данных использовали для построения матрицы величин коэффициента сходства. Для всех возможных пар сравнения эта величина варьировала от 0,39 до 1 со средним значением по всей матрице 0,67.

Распределение 48 образцов (генотипов) сорго на фенограмме, построенной по результатам кластерного анализа, приведено на рис. 1. Все образцы сформировали три кластера: кластер А включил 14 образцов: 10 из разных регионов Африки и 4 из стран Азии; кластер Б был самым крупным — он объединил 28 образцов, из них 25 происходили из различных регионов Азии и только 3 имели африканское происхождение (2 из Марокко и 1 из Эфиопии). Этот кластер имел сложную структуру: он объединил 5 подкластеров; подкластеры 1 – 3 содержали 9 образцов, включая 5 из стран Южной Азии (Бангладеш, Индия, Непал и Пакистан); подкластер 4 содержал только образцы, происходящие из региона Центральной Азии (Западный Китай, Северный Пакистан, Туркмения и Узбекистан); подкластер 5 объединил образцы сорго, происходящие главным образом из Восточной Азии (Китай, Корея и Япония); кластер В включил 2 образца из Азии и 4 из Восточной Африки (Кения, Танзания и Уганда).

Анализ матрицы величин коэффициента сходства методом главных осей показал распределение образцов, очень сходное тому, что было получено в кластерном анализе. На плоте, построенном по результатам анализа двух первых главных осей, были четко иденти-

Таблица 3. Характеристика генов в геноме риса, полученная с использованием маркеров риса

№ п/п	Маркер	Размер ПЦР продукта, п.н.		Категория*	Гены белков в геноме риса
		у риса	у сорго		
1	E20660	224	250	II	Подобен белку P2-B (CaRP2B) субъединицы 60S рибосомы
2	R494	206	490, 500, 700	II	Подобен цитохром-b5-редуктазе
3	S13528	217	500	IV, III	III: Белок, содержащий домен RINGv
4	S13654	171	350, 400, 1000	III	Белок, содержащий домен циклической нуклеотидфосфодиэстеразы Arpr > p
5	18-49	248	450	II	Подобен цистеин-синтетазе [митохондриальный предшественник (EC 2.5.1.47) (O-ацетилсерин(тиол)-лиаза)]
6	C53493	203	300	II	Подобен белку ATOZII (стресс-индуцибельный белок OZII)
7	E3902	213	700	II	Подобен фактору 2 в обмене этилена
8	C63279	188	200	III, I, I	III: Белок, содержащий домен протенин-киназы. I: Низкомолекулярный белок теплового шока Oshsp17,3. I: Низкомолекулярный белок теплового шока Oshsp18,0
9	E522	203	230, 260	II, II	II: Подобен аминотрансферазе 3 [хлоропластный предшественник (EC 2.6.1.42) (Atbcat-3)]. II: Подобен сквален-монооксигеназе 2 (EC 1.14.99.7)
10	E11757	176	490, 495	IV, I	I: Ален-оксид-синтетазы
11	06-42	228	180	IV	
12	C11112	193	240, 250	II	Подобен альтернативной оксидазе 1a (фрагмент)
13	C52717	202	220	II, II	II: Подобен белку L18 субъединицы 60S рибосомы. II: Подобен гомологу рецептора этилена
14	10-33	236	140, 150	II	Подобен тиоредоксин-редуктазе
15	C61344	187	100	II	Подобен тирозил-гРНК-синтетазе. Класс I aaRS
16	15-19	228	350	III	Белок, содержащий домен, родственные DOMON
17	07-14	174	280	—	
18	07-19	150	500	III	Содержит домен, сходный с кальций-связывающим белком EGF
19	C30194	211	250	—	
20	03-14	175	400	IV, IV	
21	07-33	192	350	III	Белок, содержащий домен SMAD/FHA
22	RZ869	232	700	V	
23	12-17	172	700	—	
24	13-12	159	450	—	

\* I — идентичен известному белку риса; II — подобен известному белку риса; III — белок, содержащий InterPro-домен; IV — консервированный гипотетический белок; V — гипотетический белок; прочерк — нетранскрибируемый участок ДНК.



на фенограмме (рис. 1). Третья группа (В) объединила 5 образцов, которые присутствовали в кластере В. Два образца из Кении занимали промежуточное положение между группами А и В. Если различия в расположении на плоте образцов, принадлежащих к группам Б и В, были детерминированы первой главной осью, то расположение образцов групп А и В определялось обеими двумя главными осями. Две первые главные оси выявляли в сумме 35,2 % от общей вариабельности комплекса маркеров (22,4 % по оси 1, 12,8 % по оси 2).

Зерновое сорго — наиболее важный в хозяйственном отношении вид рода *Sorghum*. Оно наиболее распространено в засушливых регионах Африки и Азии, особенно там, где возделывание других зерновых злаков весьма ограничено [9, 10]. Как древняя и широко распространенная культура сорго обладает весьма большим морфологическим разнообразием, которое до сих пор трудно поддается классификации из-за обилия промежуточных форм. Существуют различные и достаточно сложные ботанические системы зернового сорго [9, 11].

В последние годы ряд исследователей для изучения внутривидового генетического разнообразия сорго пытались применить различные ДНК-маркеры (PDRF, RAPD, AFLP и SSR) [12]. В нашей работе мы отобрали из имеющегося набора маркеров риса те, которые были эффективны в различении генотипов сорго, и использовали их для классификации выборки образцов сорго различного географического происхождения.

На основе анализа сорго с использованием STS- и InDel-маркеров, а также двух независимых методов многомерной статистики (кластерного анализа и анализа методом главных осей) было показано наличие в генофонде этой культуры трех основных центров генетического разнообразия, происхождение которых, по-видимому, связано с эволюцией и распространением ее в Африке и Азии в течение тысячелетий.

В нашем исследовании африканские образцы сформировали две наиболее различающиеся группы: В, включившую образцы из Восточной Африки (Уганда и Танзания), и А, содержащую образцы из других регионов этого континента. Два образца из Кении занимали промежуточное положение между этими группами. О наличии первого уровня генетической дифференциации между группами А и В свидетельствуют наименьшие значения величин коэффициента сходства между парами образцов № 44 (Уганда) и 38 (Марокко), 44 (Уганда) и 32 (Алжир), 42 (Танзания) и 45 (Эфиопия), а также наибольшее расстояние между образцами этих групп на фенограмме и плоте, построенном по результатам анализа двух первых главных осей. Эти данные указывают на наличие двух главных центров генетического разнообразия африканского сорго, что также было показано в исследовании стержневой коллекции сорго с использованием ПДРФ-маркеров [13]. Возможно, что такая дивергенция в эволюции африканского сорго связана с этнической изоляцией племен, существовавшей еще в доисторическое время [10, 14].

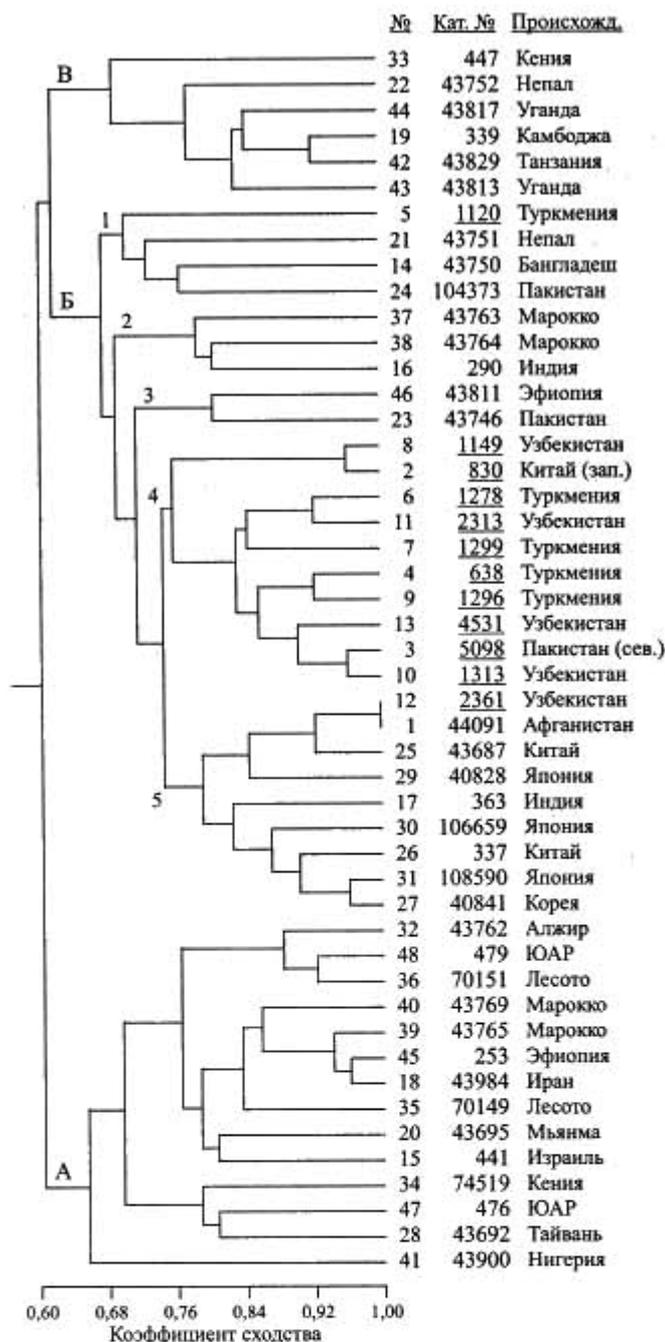


Рис. 1. Распределение 48 образцов сорго на дендрогрмме, построенной по результатам их анализа с использованием STS- и InDel-маркеров риса

В нашем исследовании азиатские образцы сорго сформировали самостоятельную генетическую группу (Б), хотя некоторые из них объединились в группах А и В. Если в кластере Б из 28 образцов было 3 африканских, то в группе Б, полученной по результатам анализа главных осей, — 26 азиатских и только 1 образец, происходивший из Африки. Мы впервые предлагаем выделить азиатское сорго в самостоятельный центр генетического разнообразия этой культуры. М. Дью с сотр. [13] в ПДРФ-анализе 210 местных сортов сорго различного происхождения идентифицировал только два основных географических пула в генофонде сорго: первый из них был связан с регионами Африки к северу от

экватора, другой — с регионами этого континента к югу от экватора. Большинство азиатских образцов сорго объединялись с африканскими образцами в разных кластерах. Интересно, что местные сорта сорго из Китая образовали самостоятельный кластер среди десяти кластеров, идентифицированных в этой работе. К. Кимбер [15] предположила, что сорго было окультурено в Восточной Африке примерно 3 – 6 тыс. лет назад, затем оно распространилось по всему африканскому континенту и проникло в Азию лишь в первом тысячелетии нашей эры. Исходя из наших результатов, мы также полагаем наличие двух главных центров генетического разнообразия сорго, которые связаны с Африкой (различия в положении сортов этих групп на плоте определяются двумя первыми главными осями). Азиатское сорго в своем происхождении, по-видимому, связано с восточноафриканским: различия между ними определяются только второй главной осью. Однако мы представляем его как самостоятельный центр генетического разнообразия этой культуры, который имеет длительный период самостоятельной эволюции. Об этом также свидетельствует выявленная нами дифференциация азиатского сорго на южно-азиатское (подкластеры 1 – 3), центрально-азиатское (подкластер 4) и восточно-азиатское (подкластер 5). Следует отметить,

что образцы сорго из Центральной Азии впервые изучены нами с использованием ДНК-маркеров и показана генетическая уникальность этих образцов.

### Заключение

Результаты нашей работы показали, что последние достижения в изучении генома риса могут быть с успехом использованы в анализе генетического разнообразия других неродственных видов сем. Poaceae. Например, cDNA-STS and InDel-маркеры риса оказались эффективны в изучении внутривидового генетического разнообразия зернового сорго. Полученные результаты позволили выявить три основных географических центра генетического разнообразия этой культуры. Два из них связаны с африканским континентом. Впервые идентифицированный в нашей работе третий центр связан с различными регионами Азии и имеет сложную генетическую структуру: он включил самостоятельные генетические группы образцов из Южной, Восточной и Центральной Азии. Уникальность последних впервые показана на молекулярном уровне. Наиболее полно эти сорта представлены именно в коллекции ВИР и практически отсутствуют в других коллекциях.

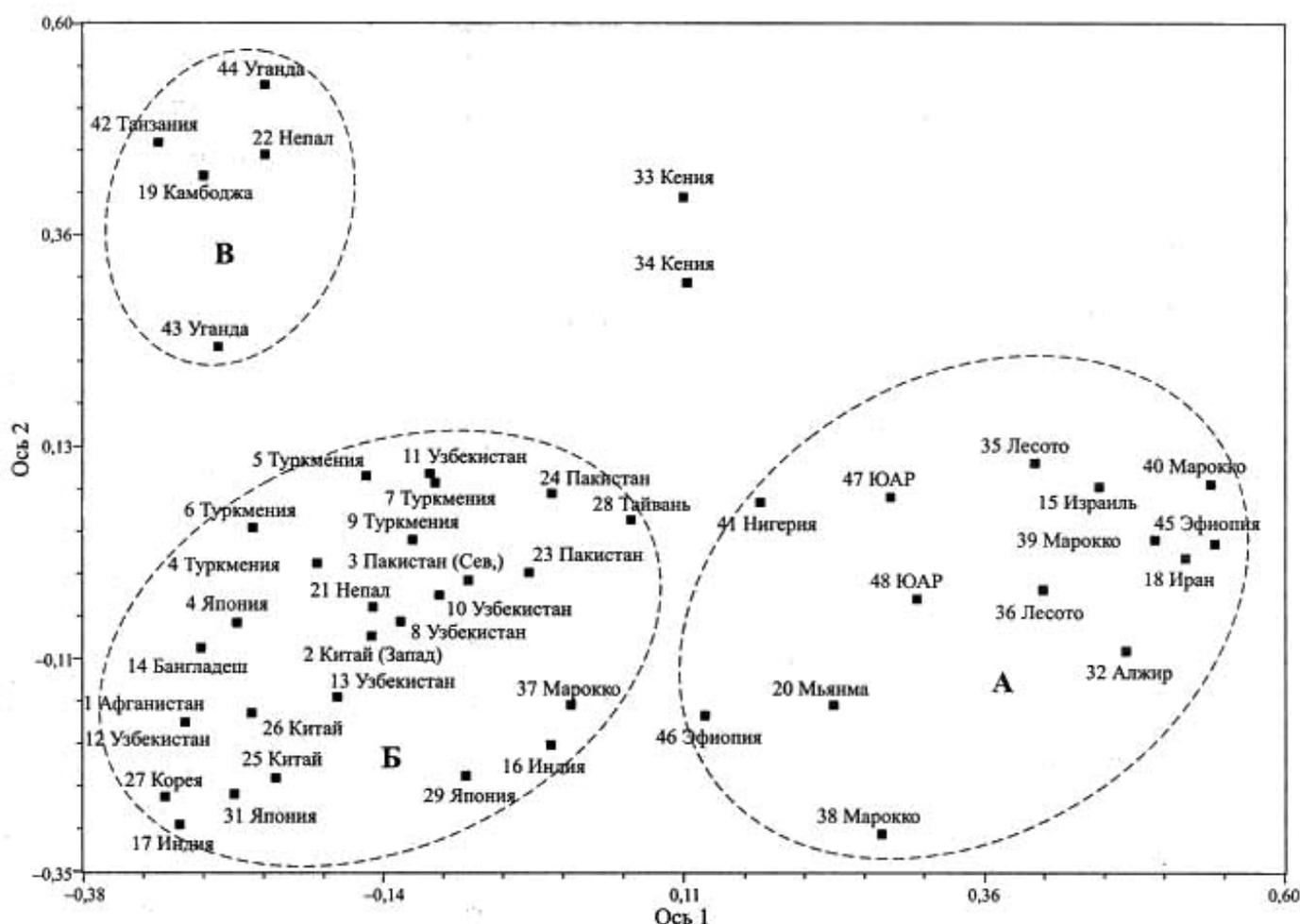


Рис. 2. Распределение 48 образцов сорго на плоте, построенном по результатам анализа двух первых главных осей с использованием STS- и InDel-маркеров риса

## Литература

1. Int. Rice Genome Seq. Project. The Map-Based Sequence of the Rice Genome / *Nature*. 2005. V. 436. P. 793 – 800.
2. Moore G., Devos K. M., Wang Z., Gale M. D. / *Curr. Biol.* 1995. V. 5. P. 737 – 739.
3. TIGR syntenic blocks between rice and sorghum / *Rice Genome Annotation*. 2007. [http://www.tigr.org/tdb/syteny/sorghum/figureview\\_desc.shtml](http://www.tigr.org/tdb/syteny/sorghum/figureview_desc.shtml).
4. Campbell M. A., Zhu W., Jiang N., et al. / *Plant Physiol.* 2007. V. 145. P. 1311 – 1322.
5. Strelchenko P., Okuizumi H., Shehzad T., et al. An assessment of the genetic relationships between sorghum accessions originating from different regions of Asia and Africa using rice cDNA-STS and Insertion/deletion markers / *JARQ*. 2010 (в печати).
6. Shen Y.-J., Jiang H., Jin J.-P., et al. / *Plant Physiol.* 2004. V. 135. P. 1198 – 1205.
7. Edwards K., Johnstone C., Thompson C. / *Nucl. Acids Res.* 1991. V. 19. P. 1349 – 1358.
8. Mulder N. J., Apweiler R., Attwood T. K., et al. / *Nucl. Acids Res.* 2005. V. 33. Database Issue. P. 201 – 205.
9. Якушевский Е. С. / *Тр. по прикл. бот., ген. и сел.* 1969. Т. 41. Вып. 2. С. 148 – 178.
10. Doggett H. / Longman Scientific and Technical. — London, 1988. — 512 p.
11. Harlan J., de Wet J. / *Crop Sci.* 1972. V. 12. P. 172 – 176.
12. Ritter K. B., McIntyre C. L., Godwin I. D., et al. / *Euphytica*. 2007. V. 157. P. 161 – 176.
13. Deu M., Rattunde F., Chantereau J. / *Genome*. 2006. V. 49. P. 168 – 180.
14. de Wet J. M. J., Huckabay J. P. / *Evolution*. 1967. V. 21. P. 787 – 802.
15. Kimber C. T. / *Sorghum: Origin, History, Technology, and Production* / eds. Smith C., Frederiksen R. — NY: John Wiley and Sons, 2000. P. 3 – 98.

Стрельченко П. П., канд. биол. наук;

Романова О. И., канд. с.-х. наук

ГНЦ Всероссийский НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова (ВИР), Санкт-Петербург  
a.koparev@vir.nw.ru

Окуно К., докт., профессор;

Университет г. Цукубы, Ибараки, Япония

## ОЦЕНКА БЕЛОЗЕРНОЙ КУКУРУЗЫ ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР ИМ. Н. И. ВАВИЛОВА НА КАЧЕСТВО

Г. В. Матвеева, В. И. Хорева

Изучены на содержание белка, крахмала и масла в зерне 102 местных сорта кремнистой и лопающейся кукурузы, происходящих из разных стран мира, и самоопыленные линии белозерной кукурузы из коллекции ВИР им. Н. И. Вавилова. Местные сорта белозерной кукурузы несущественно отличались друг от друга по изученным показателям. Линии, выделившиеся по содержанию белка в зерне при репродукции на опытных станциях ВИР, могут быть использованы при создании высокобелковых гибридов. Для выявления большего числа источников белозерной кукурузы, ценных для селекции на качество, необходимо привлечение в исследование более широкого генетического разнообразия культуры.

**Ключевые слова:** белозерная кукуруза, оценка на качество.

### EVALUATION WHITE-KERNELED CORN FROM N. I. VAVILOV INSTITUTE COLLECTION ON QUALITY

G. V. Matveeva, V. I. Choreva

102 local varieties of siliceous and bursting corn occurring of the different countries of the world and the self-pollinated lines white-kerneled corn from collection N. I. Vavilov Institute are studied on the contents of protein, starch and oil in grain. Local varieties white-kerneled corn insignificantly differed from each other on the studied characters. The lines which have allocated under the contents of protein in grain at a reproduction on N. I. Vavilov Institute experimental stations, can be used at creation high-protein hybrids. For revealing greater number of sources white-kerneled corn valuable to selection on quality, attraction in research of wider genetic variety of culture is necessary.

**Keywords:** white-kerneled corn, evaluation on quality.

## Введение

В последние годы большую популярность среди продуктов питания приобретает кукуруза. В Северо-

кавказском регионе зерно кукурузы с белым зерном считается традиционной национальной культурой, которую используют для приготовления мамалыги, хлебобулочных изделий и крупы разного помола.