

УДК 575.11.113:854.78

А. Є. СОЛОДЕНКО¹, к. б. н., пров. наук. співроб.,

Б. Ф. ВАРЕНИК¹, к. с.-г. н., зав. від.,

В. В. БУРЛОВ², д. б. н.,

К. В. ВЕДМЕДЕВА³, к. б. н., зав. лаб.

¹СГІ– НЦНС, Одеса

²ТОВ АПФ «Флора», Одеса

³Інститут олійних культур НААН України, Запоріжжя

e-mail: angelika_solo@yahoo.com

ВИКОРИСТАННЯ ДНК-МАРКЕРІВ В ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦІЙНИХ ПРОГРАМАХ СОНЯШНИКУ (*Helianthus annuus* L.)

Досліджено поліморфізм генотипів соняшнику української та закордонної селекції з застосуванням молекулярних маркерів. Запропоновані методичні підходи для диференціації та класифікації різноманітного вихідного матеріалу, ідентифікації певних генів стійкості соняшнику до вовчка, несправжньої борошністої роси (НБР), до АНАС-інгібуючих гербіцидів. Обговорюється можливість використання запропонованих ДНК-маркерів у генетико-селекційних програмах.

Ключові слова: соняшник, ДНК-маркери, класифікація, стійкість, несправжня борошніста роса, вовчок, гербіциди.

Вступ. Дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму певних ДНК-локусів є ефективним заходом в генетиці та селекції сільськогосподарських рослин. Аналіз означеного поліморфізму соняшнику дозволяє оцінити генетичне різноманіття, класифікувати вихідний селекційний матеріал, маркувати гени господарсько цінних ознак, а також вести генетичний моніторинг у селекції та насінництві [1].

Соняшник — одна з найбільш рентабельних культур в Україні, все ж потребує удосконалення певних етапів селекційного процесу та насінництва, використання сучасних досліджень специфічності генотипів та розробки і впровадження маркерних технологій. Одним з найбільш перспективних джерел кодомінантних маркерів для застосування в маркеропосередкованій селекції є поліморфізм мікросателітної ДНК.

Ефективність селекції досліджуваної культури чимало залежить від допосівної діагностики генетично детермінованої стійкості до найбільш шкочинних патогенів: рослини-паразита вовчка (*Orobanche cymosa* L.) та паразита грибної природи — несправжньої борошністої роси (*Plasmopara helianthi* Novot.). Екологічно безпечним та економічно вигідним способом боротьби з вовчком та несправжньою борошністою

росою є селекційний — створенням і вирощуванням сортів та гібридів з високою генетичною стійкістю.

Стійкість до вовчка контролюється доміантними генами *Or*. Стійкість до найагресивніших доміантних рас НБР контролюється низкою генів *Pl*, які згруповані в декілька кластерів: тісно зчеплені гени *Pl1*, *Pl2*, *Pl6*, *Pl7*, що картовані на 8 групі зчеплення генетичної карти соняшнику; кластер генів 13-ї групи зчеплення *Pl5/Pl8*; гени *Pl13* та *Pl_{ARG}*, локалізовані на 1 групі зчеплення [2]. Найбільш об'єктивна оцінка потенційної стійкості соняшнику до вовчка та *Plasmopara helianthi* пов'язана з можливістю виявляти наявність у геномі рослини генетичних детермінант стійкості — генів *Or* та *Pl*. Застосування ДНК-маркерів до генів *Or* дозволить скоротити терміни тестування стійкості генотипів, а також, що важливо в селекції, проводити такий аналіз на будь-якій стадії розвитку рослини.

Реалізація потенційної продуктивності вітчизняних гібридів соняшнику можлива лише за умов, коли гібриди поєднуюватимуть її з генетично зумовленою стійкістю до високоефективних гербіцидів. Найбільш вживані гербіциди, які належать до імідазолінонової та сульфонілмочевинної груп, інгібують фермент синтезу амінокислотних ланцюгів — синтазу ацетогідроксикислоти (acetohydroxycidsynthase, AHAS), що призводить до фатального порушення метаболізму у чутливих до дії гербіцидів рослин [3]. Стійкість до гербіцидів, які інгібують AHAS, виникає в рослин у результаті точкових мутацій у генах, що кодують синтез даного ферменту. У соняшнику мутантні гени AHAS інтрогресовані зі зразків дикорослих популяцій (ANN-PUR та ANN-KAN) в елітні інбредні лінії з метою створення стійких сортів та гібридів [4, 5]. Досліджена молекулярна структура генів *AHAS1*, *AHAS2*, *AHAS3* [6]. Аналіз послідовності гена *AHAS1* у 23 інбредних ліній дозволив виявити 48 SNPs та варіацію за кількістю [ACC] n повторів [7].

Метою нашої роботи була оцінка молекулярно-генетичного поліморфізму соняшнику та розробка системи ДНК-маркерів генів *Or*, *Pl*, *AHAS* для використання в генетико-селекційних програмах, спрямованих на створення генотипів з потрібними запрограмованими господарсько цінними ознаками.

Матеріали та методи. Матеріалом дослідження слугували представники дикорослих видів *Helianthus* L.; самозапилені лінії та гібриди різних років створення, колекційні зразки СГІ–НЦНС, Інституту олійних культур НААН (ІОК), Інституту рослинництва ім. В. Я. Юр'єва (ІР); лінії-диференціатори стійкості соняшнику до певних рас несправжньої борошністої роси (НБР): HA-288, RHA-265, RHA-274, DM-2, PM-13, PM-17, 803-I, QHP-1, FT-226 (аналог QHP-1), HA-R4, HA-R5, HA-335, RHA-419, які входять до міжнародного стандарту для ідентифікації патотипів збудника НБР *Plasmopara helianthi* Novot. та оцінки стійкості культури до різних рас НБР, а також зразки *H. argophyllus* з колекцій СГІ–НЦНС і ІОК.; 16 субліній соняшнику, виділених з комерційних ліній-закріплювачів стериль-

ності X1002, X2111, X2122, X1006 селекції IP; лінія КЛВ 80/1 та її спонтанні мутантні форми, отримані в ІОК; лінії, отримані з National Germplasm Resources Laboratory (North Central Regional PI Station, North Dakota, USA) для використання в селекційних програмах СГІ–НЦНС зі створення стійких до гербіцидів батьківських ліній та гібридів: SURES-1, HA-425, RHA-426, RHA-427, HA-442, RHA-443, IMISUN-1, IMISUN-2, IMISUN-3, IMISUN-4, Sumo-1, Sumo-2, а також нестійкі до гербіцидів лінії селекції СГІ–НЦНС ОС1011 та ОС1013, які залучаються до програми створення гербіцидостійких гібридів, адаптованих до умов України.

ДНК виділяли цетавлоновим методом. Ампліфікацію здійснювали на приладі «Терцик» (ДНК–технологія, Росія). Електрофорез продуктів полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) проводили в 10 % поліакриламідних гелях з наступною візуалізацією азотнокислим сріблом. Документували отримані електрофореграми цифровою відеокамерою. Частоту стрічальності та індекс поліморфності (Polymorphic Index Content, PIC) розраховували за формулою:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2,$$

де f_i^2 — частота і-го алеля.

Результати досліджень та обговорення. Різні варіанти полімеразної ланцюгової реакції використані для дослідження геному соняшнику з метою вирішення ряду теоретичних та прикладних питань.

Молекулярно-генетичний поліморфізм соняшнику на між- та внутрішньовидовому рівнях. Досліджено генетичне різноманіття представників роду *Helianthus*, а також генотипів соняшнику української та закордонної селекції з використанням полілокусних та монолокусних маркерних систем [8, 9]. Проаналізовано поліморфізм довільно ампліфікованої ДНК 35 видів та підвидів роду *Helianthus* [10]. Порівняльний аналіз спектрів ампліфікації дозволив визначити генетичні дистанції між різними *Helianthus sp.* Розподіл видів у цілому відповідає морфологічному поділу даного роду на секції. Відзначено, що селекційні лінії відрізняються одна від іншої більше, ніж представники різних підвидів дикорослих видів *Helianthus*.

Аналіз генетичних дистанцій, що розраховані на підставі даних поліморфізму довільно ампліфікованої ДНК, дозволив класифікувати інбредні лінії соняшнику згідно ступеню генетичної віддаленості, розподілити лінії на групи материнських та батьківських форм [11]. Інформація про генетичну спорідненість ліній, що базується на результатах молекулярно-генетичного аналізу, може бути застосована в гібридній селекції при доборі батьківських пар. Виявлена можливість прогнозування низькогетерозисних гібридів, що дозволяє їхню відбраковуку на початкових етапах селекційного процесу, базуючись на результатах дослідження поліморфізму ДНК батьківських ліній [12].

Проаналізовано поліморфізм мікросателітної ДНК 21 виду роду *Helianthus*, які активно залучаються до міжвидової гібридизації з культурним соняшником як донори агрономічно цінних ознак [13]. Виявлено видоспецифічні алелі, які є потенційними маркерами наявності чужорідного генетичного матеріалу в геномі віддалених гібридів.

Аналіз поліморфізму мікросателітної ДНК використали для дослідження різноманіття селекційного матеріалу. Виявлені 77 алелів 16-ти мікросателітних локусів дозволили диференціювати інбредні лінії згідно їхнього походження [9]. Визначено алелі, що є характерними для генетичного матеріалу певного селекційного центру: алелі 164 п. н. і 173 п. н. (локус *Ha1608*) виявлено лише у інбредних ліній селекції ІОК; алель 172 п. н. (локус *ORS4*), алель 252 п. н. (локус *Ha1796*) і алель 204 п. н. (локус *ORS509*) зустрічаються лише у генотипів селекції СГІ–НЦНС. В одному з найбільш варіабельних локусів (*ORS595*) детектовано вісім алелів, з яких алель 179 п. н. виявлено тільки у генотипів ІОК та СГІ–НЦНС, алелі 185 п. н. і 140 п. н. зустрічаються лише у генотипів СГІ–НЦНС, алелі 168 п. н., 127 п. н. і 173 п. н. є характерними для ліній і гібридів Інституту рослинництва.

Порівняння даних аналізу молекулярно-генетичного поліморфізму селекційних форм різних років створення дозволило виявити звуження генетичного різноманіття генотипів соняшнику, які використовуються для створення сучасних українських гібридів [14, 15]. В середньому у ліній, які занесені в Реєстр сортів рослин України після 2006 р., виявлено 3 алелі на мікросателітний локус, індекс поліморфності дорівнює 0,48. Для порівняння, на вибірці з двадцяти елітних інбредних ліній, які є батьківськими формами високопродуктивних українських гібридів соняшнику селекції кінця 90-х років, інформаційні показники досліджених мікросателітних локусів значно вищі: 5,5 алеля в локусі, PIC=0,72 (табл. 1).

Таблиця 1

Порівняння показників інформативності мікросателітних локусів, отриманих для ліній різних років створення

| Локус | Кількість алелів | | Індекс поліморфності | |
|-----------------|---------------------------|------------------------------------|---------------------------|------------------------------------|
| | лінії селекції 90-х років | лінії, зареєстровані після 2006 р. | лінії селекції 90-х років | лінії, зареєстровані після 2006 р. |
| <i>Ha 1796</i> | 3 | 3 | 0,62 | 0,43 |
| <i>Ha 1608</i> | 8 | 2 | 0,84 | 0,50 |
| <i>ORS 3</i> | 5 | 2 | 0,72 | 0,51 |
| <i>ORS 4</i> | 3 | 3 | 0,64 | 0,51 |
| <i>ORS 78</i> | 5 | 5 | 0,74 | 0,68 |
| <i>ORS 509</i> | 8 | 4 | 0,78 | 0,63 |
| <i>ORS 595</i> | 7 | 1 | 0,80 | 0 |
| <i>ORS 599</i> | 8 | 3 | 0,77 | 0,49 |
| <i>ORS 1024</i> | 5 | 5 | 0,69 | 0,68 |
| <i>ORS 409</i> | 4 | 2 | 0,67 | 0,44 |
| <i>ORS546</i> | 5 | 3 | 0,70 | 0,36 |

Властива мікросателітним маркерам кодомінантна природа успадкування дозволяє досліджувати алельне різноманіття певних локусів геному та виявляти гетерозиготи. Саме тому цей тип маркерів є незамінним при ідентифікації генотипів. Високий ступінь гетерозиготності за гіперваріабельними мікросателітними локусами сприяє їхньому використанню як кодомінантні маркери при визначенні гібридності простих гібридів соняшнику F_1 . Нами запропоновано надійний, точний та швидкий спосіб оцінки рівня гібридності в партіях насіння простих гібридів за результатами молекулярно-генетичного тестування [16], а також технологія ідентифікації і реєстрації інбредних ліній і гібридів у вигляді генетичної формули генотипу за результатами ПЛР-аналізу мікросателітної ДНК [17, 18].

Високий рівень однорідності та можливість її прискореного досягнення для самозапильних ліній соняшнику завжди були актуальними. Останнім часом зросла значущість однорідності ліній у зв'язку з підвищеними вимогами при їхньому патентуванні. Генетична неоднорідність інбредних ліній призводить до того, що в більшості випадків індивідуальний добір у межах так званих чистих ліній створює нові лінії чи сорти. Неоднорідність ліній може пояснюватися випадковим перезапиленням, прихованою гетерозиготністю, появою мутацій. В практичній селекції поняття «чистої лінії» замінили визначенням «лінії». Головною відмінністю лінії від чистої лінії можливо вважати її відносну гомозиготність, що дає можливість здійснювати внутрিলінійний добір, в першу чергу за господарсько цінними ознаками. В наших дослідженнях полілокусний маркерний ДНК-аналіз застосовано для контролю однорідності самозапильних ліній соняшнику в процесі їхнього насінництва [19]. Метою роботи було визначення поліморфізму між сублініями, які відрізняються візуально за низкою морфологічних і селекційно-цінних ознак. Застосуванням ДНК маркерів вивчили 16 субліній, які були виділені за показниками продуктивності та комбінаційної здатності з комерційних ліній-закріплювачів стерильності: X1002, X2111, X2122, X1006. В деяких випадках виявлено значний рівень генетичних розбіжностей між дібраними сублініями.

Проведено дослідження молекулярних і цінних селекційних ознак мутантних ліній соняшнику у порівнянні з вихідними лініями [20]. Спонтанні природні мутанти, які значно відрізнялися за низкою морфологічних ознак та селекційних параметрів від похідної лінії, показали найбільші генетичні відстані від неї за результатами аналізу поліморфізму ДНК. Так, наприклад, максимальну віддаленість від вихідної форми лінії КЛВ80/1, за даними молекулярного аналізу, показала мутантна форма М-10. Такий результат добре корелює з тим, що між цими зразками виявлені достовірні відмінності за низкою селекційних показників, насамперед важливим є достовірне збільшення загального врожаю лінії М-10. Мутантна форма М-23, для якої виявлено значну відмінність за ДНК-маркерами від вихідної лінії КЛВ 80/1, показала достовірне збільшення за важливим селекційним показником — масою 1000 насінин. Мінімально відрізня-

лися КЛВ 80/1 і М-17, і саме вони не показали жодних розбіжностей за 12 проаналізованими морфометричними та селекційними показниками. Використання молекулярного дослідження дало можливість виявити генетичну мінливість мутантних ліній та оцінити кількісно потенціал відмінності останніх від вихідної форми.

Маркування генів стійкості соняшнику до вовчка та несправжньої борошнистої роси. Виявлені ДНК-маркери, що диференціюють контрастні за стійкістю до раси С зразки соняшнику, а також зчеплення отриманих маркерів та локусу *Or3*, який контролює стійкість до рас А-С [21, 8]. Визначення алельного складу ліній та гібридів за локусами геному соняшнику *RTS 338_A*, *RTS 338_C*, *RTS 338_D*, *ORS1036* запропоновано нами як спосіб ідентифікації стійких до вовчка генотипів [22]. Найбільш ефективним для тестування наявності генетично детермінованої стійкості до вовчка рас А-С визнано мікросателітний локус *ORS1036*. Означений ДНК-маркер зчеплено з локусом *Or3* на відстані 8 сМ. Продемонстровано ефективність маркера у 90,7 % проведених тестувань [23].

Досліджено молекулярно-генетичний поліморфізм ліній-носіїв генів *PI* та ліній, які не мають генів стійкості, за алелями мікросателітних локусів, локалізованих на 1, 8, 13 групах зчеплення генетичної карти соняшнику [24]. Генотипування ліній-диференціаторів, а також селекційних ліній 9A, 108A та OC1029B проведено за 34 мікросателітними локусами, які локалізовані на відстані не більше 10 см від кластерів генів *PI*.

За даними літератури кілька мікросателітних локусів з 8-ї групи зчеплення, а саме: *ORS1043*, *ORS166*, *ORS37*, виявилися ефективними маркерами при аналізі успадковування в селекційних популяціях F_3 гена *PI6*, джерелом якого слугувала інтрогресивна лінія НА-336 [25]. У наших дослідженнях виявлено поліморфізм, який не пов'язаний з присутністю в генотипі ліній генів *PI1*, *PI2*, *PI6*. Проте деякі визначені алелі можуть бути корисними як маркери генетичного матеріалу лінії-носія гена стійкості, яка залучається в селекційні схеми отримання нових, стійких до НБР ліній і гібридів соняшнику. Так, наприклад, лінії НА-335, 803-І, НА-R4, НА-R5, QHP-1, RHA-419 виявилися поліморфними за локусом *ORS328*. Дослідження расового складу популяції НБР на півдні України свідчать про актуальність залучання в селекційний процес саме цих ліній як донорів генів, які забезпечують надійну стійкість [26]. Детекція певних алелів мікросателіта *ORS328* у зразків з популяцій, які отримані із використанням як батьківської форми лінії НА-335, дозволить ідентифікацію тих, що несуть генетичний матеріал, характерний саме для цієї лінії-носія гена *PI6*.

14 мікросателітних локусів були залучені нами до пошуку маркерів генів стійкості до НБР, локалізованих на 13-й групі зчеплення. Виявлено характерний для лінії QHP-1 алель розміром 410 п. н. локусу *ORS781*, який може бути корисним при маркерному доборі рекомбінантів, враховуючи активне використання цієї лінії як донора гена *PI8*.

16 мікросателітів, які картовані на 1 групі зчеплення генетичної карти, досліджені з метою ідентифікації маркерів гена PI_{ARG} [27]. Ген PI_{ARG} надає універсальної стійкості проти всіх відомих на даний час рас НБР. Даний ген інтродуковано в геном культурного соняшнику з дикорослого виду *H. argophyllus*. RHA-419 — є однією з ліній-носіїв гена стійкості PI_{ARG} . Дикорослі споріднені види, зазвичай, використовують в селекційних програмах як донорів генів стійкості до різноманітних абіотичних стресів та несприятливих біотичних чинників. *H. argophyllus* і лінія RHA-419 активно залучаються в селекцію з метою створення нових стійких генотипів. Детекція певних ДНК маркерів у зразків з гібридних популяцій та бекросів, які отримані із використанням в якості батьківської форми *H. argophyllus* або лінії RHA-419, дозволить ідентифікацію тих, що несуть генетичний матеріал, характерний саме для донора гена PI_{ARG} . В нашому дослідженні виявлені маркерні алелі, характерні для *H. argophyllus*: 190 п. н. (локус *ORS605*), 220 п. н. (*ORS1039*), 315 п. н. (*ORS716*), а також для лінії RHA-419: 197 п. н. (*ORS605*), 130 п. н. (*ORS610*), 190 п. н. (*ORS1039*). Алелі 207 п. н. (локус *ORS509*), 165 п. н. (*ORS1182*) і 220 п. н. (*ORS675*) дозволяють ідентифікувати фрагмент першої групи зчеплення, який має походження від *H. argophyllus* або лінії RHA-419. Так, наприклад, у локусі *ORS1039* виявлено три алеля, один з них характерний для *H. argophyllus*, другий — для лінії RHA-419, третій — для всіх інших досліджених ліній (рис. 1).

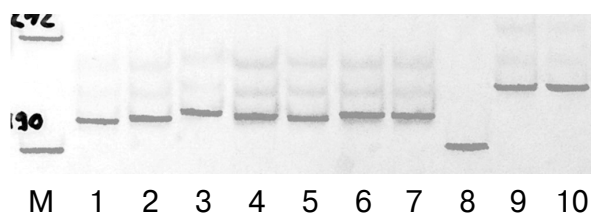


Рис. 1. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК за локусом *ORS1039*: 1 — HA-228; 2 — QHP-1; 3 — FT-226; 4 — HA-335; 5 — Од9А; 6 — Од108А; 7 — ОС1029В; 8 — RHA-419; 9 — *H. argophyllus* (зразок 1); 10 — *H. argophyllus* (зразок 2); М — маркер молекулярної маси ДНК рUC 19 / *MspI* (фрагменти 190 та 242 п. н.)

На генетичній відстані 15,6 сМ від гена PI_{ARG} картований ген стійкості *PI13*, який фланковано мікросателітами *ORS1008* та *ORS965–1* [28]. Носіями гена *PI13* є лінії HA-R4, HA-R5, які походять з аргентинських сортів, та створеної у Франції лінії QHP-1. У нашому дослідженні в локусі *ORS1008* визначено три алеля: 330 п. н., 297 п. н. та 295 п. н. Для ліній PM-17 та QHP-1 характерні два алеля: 330 п. н. і 297 п. н. У лінії HA-R4 виявлено лише алель 297 п. н. (позначено стрілкою на рисунку 2).

Лінія HA-R5 відрізняється від HA-R4 та QHP-1 відсутністю алеля 297 п. н. Алель 295 п. н. присутній лише у нестійких до НБР ліній HA-228 та 108-А. У локусі *ORS965–1* визначено два алелі. Алель 300 п. н. виявлено

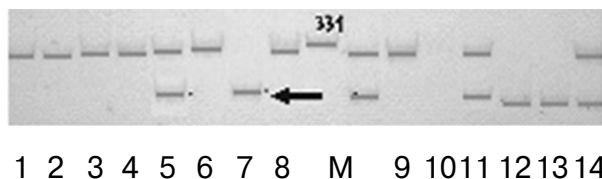


Рис. 2. Електрофореграма продуктів ампліфікації ДНК ліній-диференціаторів за мікросателітним локусом *ORS1008*: 1 — RHA-265, 2 — RHA-274, 3 — DM-2, 4 — PM-13, 5 — PM-17, 6 — 803-I, 7 — HA-R4, 8 — HA-R5, 9 — QHP-1, 10 — HA-335, 11 — RHA-419, 12 — HA-228, 13—108A, 14 — OC1029B. M — маркер молекулярної маси ДНК pUC19 / MspI (фрагмент 331 п. н.)

у HA-R4 і QHP-1, алель 310 п. н. — у всіх інших досліджених ліній. При залученні ліній HA-R4 і QHP-1 у селекційні схеми виведення стійких форм характерні для них алелі локусів *ORS1008* та *ORS965–1* можуть слугувати маркерами при ідентифікації зразків з генетичним матеріалом ліній-донорів гена стійкості *PI13*.

Використання виявлених маркерів певних генів *PI*, а також алелів, характерних для генотипів конкретних ліній-донорів стійкості, дозволить шляхом маркерної селекції прискорити цільовий добір зразків у процесі створення стійких до НБР ліній і гібридів соняшнику.

Маркери гена *AHAS1* для використання в селекції соняшнику на стійкість до гербіцидів. Ідентифіковані маркерні алелі гена *AHAS1* у генотипів соняшнику, які використовуються в селекції на стійкість до гербіцидів імідазолінової та сульфонілмочевинної груп.

Таблиця 2

Генотипи досліджених ліній за алелями (п. н.) локусів
pAHAS 16–17 та *pAHAS 18–19*

| Лінії | <i>pAHAS 16–17</i> | <i>pAHAS 18–19</i> |
|---|--------------------|--------------------|
| HA 425, RHA 426, RHA 427, HA 442, RHA 443, IMISUN-1, IMISUN-2, IMISUN-3, OC1011, OC1013 | 176 | 313 |
| Sumo-1, Sumo-2, IMISUN-4 | 184 | 320 |
| SURES-1 | 191 | 328 |

За алелями локусів *pAHAS 18–19* та *pAHAS 16–17* досліджені лінії розподілені на три групи. До першої групи увійшли HA-425, RHA-426, RHA-427, HA-442, RHA-443, IMISUN-1, IMISUN-2, IMISUN-3 та лінії української селекції OC1011 і OC1013, другу групу склали лінії Sumo-1, Sumo-2, IMISUN-4. Лінія SURES-1 за алелями досліджених локусів відокремлена від усіх інших генотипів (табл. 2).

Ідентифікація певних мікросателітних алелів для груп ліній, які залучаються селекціонерами СГІ–НЦНС до створення нових генотипів соняшнику зі стійкістю до страхових гербіцидів, дозволить проводити маркерний добір зразків з гібридних та бекросних популяцій, в яких донорами стійкості слугуватимуть лінії Sumo-1, Sumo-2, IMISUN-4 та SURES-1.

Висновки. Молекулярно-генетичні дослідження дозволили розробити ДНК-технології тестування поліморфізму та генетичної спорідненості, ідентифікації генотипів, оцінки генетичної чистоти інбредних ліній та рівня гібридності простих гібридів, маркування генів стійкості до вовчка *Or3*, генів стійкості до несправжньої борошністої роси PI_{ARG} , *PI13*, алелів мутантного гена *AHAS1*, що надає стійкості до гербіцидів.

Для підвищення ефективності селекції соняшнику та конкурентоспроможності українських гібридів пріоритетними напрямками роботи на наступні роки є маркування генів стійкості до нових рас вовчка, генів, що контролюють синтез олеїнової кислоти, локусів кількісних ознак урожайності та вмісту олії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях // Научно-методическое руководство / под ред. Ю. М. Сиволапа. — К. : Аграрна наука, 1998. — С. 9.
2. Jovic S. Towards sustainable downy mildew resistance in sunflower / S. Jovic, D. Miladinovic, I. Imerovski [et al.] // *Helia*. — 2012. — 35, N 56. — P. 61–72.
3. Duggleby R. G. Acetohydroxyacid synthase / R. G. Duggleby, S. S. Pang // *J. Biochem. Mol. Biol.* — 2000. — V. 33. — P. 1–36.
4. Al-Khatib K. Registration of four genetic stocks of sunflower resistant to imidasolinone herbicides / K. Al-Khatib, J. F. Miller // *Crop. Sci.* — 2000. — V. 40. — P. 869–870.
5. Miller J. F. Two express resistant sunflower genetic stocks / J. F. Miller, K. Al-Khatib // *Crop. Sci.* — 2004. — V. 44. — P. 1037.
6. Sala C. Genetic analysis of an induced mutation conferring imidasolinone resistance in sunflower / C. Sala, M. Bulos, M. Echarte // *Theor. Appl. Genet.* — 2008. — V. 118. — P. 105–112.
7. Kolkman J. Acetohydroxyacid synthase mutations conferring resistance to imidasolinone or sulfonyleurea herbicides in sunflower / J. Kolkman, M. Slabaugh, J. Bruniard [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* — 2004. — V. 109. — P. 1147–1159.
8. Солоденко А. Система ДНК маркерів для використання в селекції та насінництві соняшника / А. Солоденко, А. Трояновська, Ю. Сиволап // *Геном рослин : збірник наукових статей*. — Одеса, 2008. — С. 121–124.
9. Солоденко А. Идентификация генотипов подсолнечника украинской селекции с помощью SSRP-маркеров / А. Солоденко, А. Саналатий, Ю. Сиволап // *Цитология и генетика*. — Т. 40, № 4. — 2006. — С. 37–43.
10. Sivolap, Yu. Inter- and intraspecies differentiation in the genus *Helianthus* by RAPD analysis / Yu. Sivolap, A. Solodenko // *Helia*. — 1998. — № 21. — P. 9–18.
11. Сиволап Ю. М. RAPD-анализ молекулярно-генетического полиморфизма подсолнечника (*Helianthus annuus*) / Ю. М. Сиволап, А. Е. Солоденко, В. В. Бурлов // *Генетика*. — 1998. — № 2. — С. 37–43.
12. Сиволап Ю. Исследование молекулярно-генетического разнообразия инбредных линий и уровня гетерозиса у гибридов / Ю. Сиволап, А. Солоденко, В. Бурлов // *Цитология и генетика*. — 1998. — № 6. — С. 6–12.
13. Solodenko A. Genotyping of *Helianthus* based on microsatellite sequences / A. Solodenko, Yu. Sivolap // *Helia*. — V. 28, № 42. — 2005. — P. 19–26.

14. Солоденко А. Є. Мікросателітні маркери в дослідженні генетичного різноманіття ліній та гібридів соняшника / А. Є. Солоденко // Вісник Одеського національного університету. — Т. 16 (вип. 6. Біологія.). — 2011. — С. 42–48.
15. Саналатий А. Идентификация генотипов подсолнечника украинской селекции с помощью SSRP-маркеров / А. Саналатий, А. Солоденко, Ю. Сиволап // Цитология и генетика. — 2006. — Т. 40, № 4. — С. 37–43.
16. Деклараційний патент на винахід № 63265А. Спосіб встановлення типовості та рівня гібридності генотипів соняшника ; отримано 15.01.2004. — Бюл. № 1.
17. Сиволап Ю. Ідентифікація і реєстрація генотипів м'якої пшениці, ячменю, кукурудзи, соняшника за допомогою аналізу мікросателітних локусів / Ю. Сиволап, В. Волкодав, М. Бальвінська [та ін.] // Методичні рекомендації. Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН. — Одеса, 2004. — 14 с.
18. Деклараційний патент на винахід № 68813А. Спосіб ідентифікації генотипів соняшника ; отримано 16.08.2004. — Бюл. № 8.
19. Солоденко А. Е. Оценка генетических различий между сублиниями-закрепителями стерильности подсолнечника / А. Е. Солоденко, В. А. Весёлый, В. В. Кириченко, Ю. М. Сиволап // VI Intern. Conf. «Modern biotechnology of agricultural plants and biosafety (Plant genome VI)» (September, 7–10, 2010, Odessa, Ukraine). — Odessa, 2010. — P. 57.
20. Ведмедева К. В. Генетична відстань між лініями-аналогами соняшника / К. В. Ведмедева, А. Е. Солоденко, В. В. Толмачов // Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. — 2010. — № 10. — С. 11–17.
21. Солоденко А. Е. Маркирование гена устойчивости к заразихе Or3 у подсолнечника / А. Е. Солоденко, А. В. Саналатий, В. В. Толмачев [и др.] // Цитология и генетика. — 2005. — Т. 39, № 5. — С. 9–12.
22. Солоденко А. Ідентифікація стійких до вовчка (*Orobanche cumana* Wallr.) генотипів соняшника / А. Солоденко, А. Трояновська, Ю. Сиволап // Методичні рекомендації. Південний біотехнологічний центр в рослинництві УААН. — Одеса, 2007. — 7 с.
23. Солоденко А. Є. Оцінка стійкості соняшнику до вовчка раси С за допомогою молекулярних маркерів / А. Є. Солоденко // Вісник Харківського національного аграрного університету. — 2011. — Вип. 3 (24). — С. 61–66.
24. Солоденко А. Є. Мікросателітні маркери генів стійкості соняшнику до несправжньої борошністої роси / А. Є. Солоденко, Ю. М. Сиволап // Вісник Одеського національного університету. (Серія : Біологія). — 2014. — Т. 19, вип. 1 (34). — С. 46–54.
25. Development of co-dominant amplified polymorphic sequence markers for resistance of sunflower to downy mildew race 730 / D. Pancovic, N. Radovanovic, S. Jovic [et al.] // Plant Breeding. — 2007. — 126. — P. 440–444.
26. Солоденко А. Є. Расовий склад несправжньої борошністої роси та стійкість ліній соняшнику / А. Є. Солоденко, Б. Ф. Вареник, О. Є. Александрова, Ю. М. Сиволап // Збірник наукових праць СГІ–НЦНС. — Одеса, 2013. — Вип. 22 (62). — С. 117–123.
27. Солоденко А. Є. Маркери гена стійкості соняшнику до несправжньої борошністої роси / А. Є. Солоденко, В. В. Бурлов, Ю. М. Сиволап // Вісник

Харківського національного аграрного університету. (Серія Біологія). — 2014. — Вип. 3 (33). — С. 59–65.

28. Mulpuri S. Inheritance and molecular mapping of a downy mildew resistance gene, *P113* in cultivated sunflower (*Helianthus annuus* L.) / S. Mulpuri, Z. Liu, J. Femg // Theor. Appl. Genet. — 2009. — V. 119. — P. 795–803.

Надійшла 25.05.2015.

UDC 575.11.113:854.78

SOLODENCO A. Ye., VARENYK B. F., BURLOV V. V., VEDMEDEVA K. V. Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

DNA MARKERS FOR USING IN SUNFLOWER (*HELIANTHUS ANNUUS* L.) GENETIC AND BREEDING

Polymorphism of sunflower genotypes of Ukrainian and foreign breeding were investigated with using of different types of molecular markers. Approaches for differentiation and classification of breeding material, identification of resistance genes to broomrape and downy mildew, to AHAS-inhibiting herbicides were proposed. The possibility of using the developed DNA markers in genetics and breeding programs are discussed.

УДК 575.11.113:854.78

Солоденко А. Е., Вареник Б. Ф., Бурлов В. В., Ведмедева Е. В.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ В ГЕНЕТИКО-СЕЛЕКЦИОННЫХ ПРОГРАММАХ ПОДСОЛНЕЧНИКА (*Helianthus annuus* L.)

Полиморфизм генотипов подсолнечника украинской и зарубежной селекции исследован с использованием разных типов молекулярных маркеров. Предложены методические подходы для классификации и дифференциации разнообразного исходного материала, идентификации определенных генов устойчивости подсолнечника к заразице, ложной мучнистой росе, к AHAS-ингибирующим гербицидам. Обсуждается возможность применения предложенных ДНК-маркеров в генетико-селекционных программах.