

УДК 633.491:575.174.015.3

## ОЦІНЮВАННЯ ПОЛІМОРФІЗМУ СОРТІВ КАРТОПЛІ (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ ЗА SSR-МАРКЕРАМИ

Л.М. ПРИСЯЖНЮК<sup>1</sup>, В.В. БОРОДАЙ<sup>2</sup>, О.О. МАРЧУК<sup>1</sup>, Н.А. ЗАХАРЧУК<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Український інститут експертизи сортів рослин  
03041 Київ, вул. Генерала Родимцева, 15  
e-mail: prysiazhniuk\_l@ukr.net

<sup>2</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України  
03041 Київ, вул. Героїв Оборони, 15

<sup>3</sup>Інститут картоплярства Національної академії аграрних наук України  
07853 смт Немішаєве Бородянського р-ну Київської обл., вул. Чкалова, 22

Наведено результати досліджень алельного стану мікросателітних локусів сортів картоплі української селекції за чотирма SSR-маркерами: STM0019, STM3009, STM3012, STM5136. Встановлено, що застосування SSR-маркерів є ефективним методом оцінювання внутрішньовидового різноманіття картоплі та визначення її відмінностей. З метою оцінювання поліморфізму проведено полімеразні ланцюгові реакції (ПЛР) за визначеними SSR-маркерами. Відповідно до отриманих розмірів алелів розраховано їх частоти та індекси поліморфності локусу (РІС). У досліджених сортах залежно від маркера було ідентифіковано від 5 до 20 алелів. Для маркера STM0019 визначено алелі розміром 98—258 пн, для маркера STM3009 — 164—172, STM3012 — 175—224, STM5136 — 240—267 пн. Встановлено, що частота визначених алелів становила 0,08—0,33. Відповідно до отриманого розподілу, найвищою частотою за найбільш поліморфним маркером STM0019 вирізнявся алель розміром 124 пн, який ідентифіковано у чотирьох сортів: Околиця, Довіра, Явір, Скарбниця. РІС дорівнював 0,63—0,88, що свідчить про достатньо високу здатність цієї маркерної системи до диференціації сортів картоплі. З метою визначення подібності й відмінності сортів проведено кластерний аналіз. Досліджені генотипи групували у кластери за допомогою незваженого методу середніх зв'язків. За результатами кластерного аналізу відповідно до генетичних дистанцій за чотирма SSR-маркерами досліджені сорти об'єднано в три кластери: Поліське джерело і Червона рута, Явір і Скарбниця, Лілея і Слов'янка. Найбільш подібними виявились сорти Явір і Скарбниця, найбільш віддаленими — Фантазія, Левада. Сорт Околиця не увійшов до жодного зі сформованих кластерів, що можна пояснити його походженням, а звідси і комплексом ознак, які визначають напрям його використання.

**Ключові слова:** *Solanum tuberosum* L., SSR-маркери, частота алелів, генетичні дистанції, диференціація сортів.

Розробка методів вивчення генетичної різноманітності і генотипування сортів рослин, у тому числі й картоплі, істотно розширює можливість реєстрації, систематизації та збереження сортового генофонду.

ду, його раціонального використання в селекції і насінництві [8, 9, 11, 13, 15, 21]. Розвиток сучасної селекції ставить перед експертизою сортів сільськогосподарських культур важливі завдання, які полягають у розробці надійних методів ідентифікації та визначення їх відмінностей [4, 15, 22, 23]. У Державному реєстрі сортів рослин, придатних для поширення в Україні, станом на кінець 2017 р. налічувалось понад 170 сортів картоплі, тим часом як у світовій практиці відомо близько 7500 сортів. За умови зростання кількості створених сортів одним із чинників ризику при їх ідентифікації та оцінюванні є зменшення різноманіття маркерних морфологічних ознак [24, 32, 33]. Досягнення молекулярно-генетичного аналізу уможливають вивчення генетичної мінливості на рівні ДНК, що значно підвищує точність оцінки генетичного різноманіття та ідентифікації сортів [1, 14, 21]. За їх використання проведено дослідження з вивчення генетичної структури і класифікації багатьох форм картоплі, відстежено міграції зародкової плазми, здійснено ДНК-фінгерпринтинг, картування геному, створено колекції, досліджено дублікати колекцій у генетичних банках, їх потенційно застосовано при вивченні незбалансованості зв'язку і потоку генів [16, 17, 20, 29]. Оцінено поліморфізм сортів картоплі вітчизняної і зарубіжної селекції за допомогою ISSR-маркерів. Зокрема, за результатами роботи визначено філогенетичні зв'язки між дослідженими сортами [7, 12]. Проте застосування ISSR-маркерів пов'язане з певними складнощами відтворення результатів, наприклад, детальним добором чітких «сильних ампліконів» [5]. У зв'язку з цим актуальним є залучення високополіморфних кодомінантних і консервативних молекулярних маркерів, які дають змогу виявити поліморфізм у представників виду або між близькоспорідними видами, а саме, мікросателітних маркерів (SSR — simple sequence repeat) [26, 34]. На сьогодні розроблено специфічні праймери SSR-маркерів, які допомагають за методом ПЛР оцінювати внутрішньовидове різноманіття картоплі для ідентифікації сортів і здійснювати контроль за перенесенням генетичного матеріалу [25, 28, 30].

Метою наших досліджень було вивчення генетичного різноманіття сортів картоплі з використанням SSR-маркерів та відмінностей між ними для створення референсних колекцій загальновідомих сортів у процесі експертизи нових сортів, проведення селекційної роботи та захисту авторських прав.

### Методика

Матеріалом для дослідження слугували 12 сортів картоплі української селекції, надані Інститутом картоплярства НААН України: Поліське джерело, Дорогинь, Околиця, Довіра, Лілея, Левада, Явір, Червона рута, Скарбниця, Обрій, Фантазія, Слов'янка. Характеристику сортів, які занесені до Державного реєстру сортів і придатні до поширення в Україні, наведено в табл. 1.

ДНК виділяли з проростків картоплі, отриманих відповідно до методики [6], за допомогою катіонного детергенту цетилтриме-

ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ

ТАБЛИЦЯ 1. Характеристика досліджених сортів картоплі

Сорт	Рік реєстрації	Рекомендована зона вирощування	Напрямок використання	Група стиглості	Якість
Явір	2000	СЛП* <sup>1</sup>	Столовий	с/с* <sup>2</sup>	в/к* <sup>3</sup>
Дорогинь	2008	Л	“	с/с, с/п	в/к
Лілея	2003	ЛП	“	с/р	в/к
Червона рута	2005	СЛ	“	с/п	в/к
Слов'янка	1999	СЛП	“	с/с	в/к
Обрій	1997	СЛП	“	с/р	в/к
Левада	2007	П	“	с/р	в/к
Фантазія	2001	СЛП	Технічно-столовий	с/р	в/к
Скарбниця	2008	ЛП	Столовий	р/с	с/к
Поліське джерело	2008	П	“	с/п	с/к
Довіра	2007	П	“	с/р	в/к
Околиця	2011	ЛП	Столовий, переробка	с/с	с/к

Примітка. \*<sup>1</sup> С — Степ, Л — Лісостеп, П — Полісся; \*<sup>2</sup> с/с — середньостиглий, с/р — середньоранній, с/п — середньопізній, р/с — ранньостиглий; \*<sup>3</sup> в/к — висококрохмальний, с/к — середньокрохмальний.

тиламонійброміду (ЦТАБ) із дворазовим очищенням сумішшю хлороформ—ізоаміловий спирт та розчином етанолу [13].

Молекулярно-генетичний поліморфізм сортів картоплі досліджували методом ПЛР зі специфічними праймерами STM0019, STM3009, STM3012, STM5136 (табл. 2) за чотирма мікросателітними локусами (МС-локуси), які були обрані на основі аналізу їхніх індексів поліморфності [15, 17, 19, 30, 31].

ПЛР проводили на ампліфікаторі BioRad IQ5 (USA). Реакційна суміш в об'ємі 20 мкл містила: 100 нг сумарної рослинної ДНК; буфер (10 мМ *tris*-HCl, рН 9,0; 50 мМ KCl; 0,01 % Triton X-100); 2,5 мМ

ТАБЛИЦЯ 2. Характеристика праймерів SSR-локусів картоплі

Маркер	Послідовність нуклеотидів праймерів 5'...3'	Число нуклеотидів, шт.	Температура гібридизації, °С	Очікуваний розмір ампліконів, пн
STM0019	F—aatagtgtagctgactctcatg	23	50	99—206
	R— ttgaagtaaaagtcctagtatgtg	24		
STM3009	F—tcagctgaacgacctgttc	21	50	110—140
	R—gatttcaccaagcatggaagtc	22		
STM3012	F—саactсааaccааaggсааа	21	60	180—225
	R—gаgааatgggcасааааааса	21		
STM5136	F—gggаааaggаааagctсаа	19	60	240—280
	R—саасactatcgccatctccttt	22		

ТАБЛИЦЯ 3. Аелі, ідентифіковані у сортів картоплі за SSR-маркерами

Маркер	Число аелів, шт.	Розмір аелів, пн	Частота аелів	Індекс поліморфності локусу (PIS)
STM0019	20	98; 102; 106; 118; 120; 124; 172; 196; 200; 202; 204; 208; 210; 214; 220; 224; 250; 254; 256; 258	0,08–0,33	0,63
STM3009	5	164; 166; 168; 170; 172	0,08–0,33	0,76
STM3012	12	175; 177; 179; 181; 183; 210; 212; 214; 218; 220; 222; 224	0,04–0,21	0,88
STM5136	5	240; 243; 246; 249; 267	0,08–0,25	0,75

MgCl<sub>2</sub>; 200 мкМ дезоксинуклеозидтрифосфатів (дНТФ); 0,5 мкМ кожного з праймерів; одну одиницю Taq-полімерази. Параметри ампліфікації для досліджених маркерів картоплі становили: початкова денатурація — 95 °С, 5 хв, 40 циклів; денатурація — 95 °С, 45 с, 50—60 °С — 30 с, 72 °С — 30—60 с; завершальна елонгація — 72 °С — 7 хв.

Продукти реакції ампліфікації візуалізували методом електрофорезу в 4 %-му агарозному гелі у 0,5 × ТБЕ (*трис*-боратний буферний розчин) за загальноприйнятою методикою з бромистим етидієм [10]. Електрофорез ДНК проводили протягом 1 год за напруженості електричного поля 5 В/см.

Після проведення електрофорезу продуктів ампліфікації на основі отриманих даних побудовано матрицю, в якій наявність/відсутність певного амплікону позначали відповідно 1/0. Результати досліджень аналізували методом ієрархічної кластеризації з евклідовою мірою відстані за допомогою комп'ютерної програми Statistica 12.0 (тестова версія, що не потребує ліцензії) [2, 3].

### Результати та обговорення

У результаті аналізу досліджених сортів картоплі для кожного маркера було визначено розміри й частоти аелів, а також розраховано індекс поліморфності локусу (табл. 3).

Відповідно до отриманих даних, найбільше аелів ідентифіковано для маркера STM0019 (до 20 шт.), для інших маркерів їх виявлено від 5 до 12. Розміри аелів для маркера STM0019 варіювали в ме-

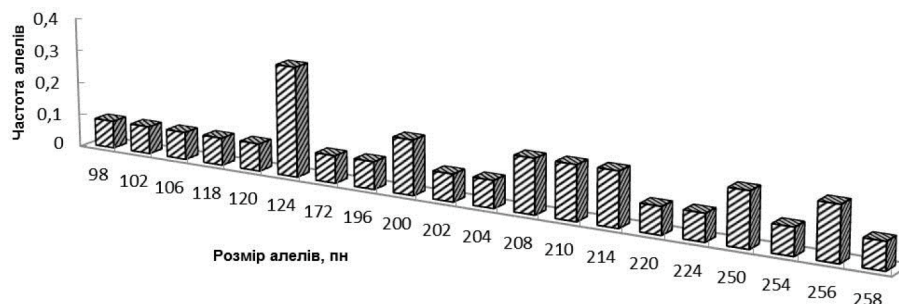


Рис. 1. Розподіл частот аелів, виявлених за маркером STM0019

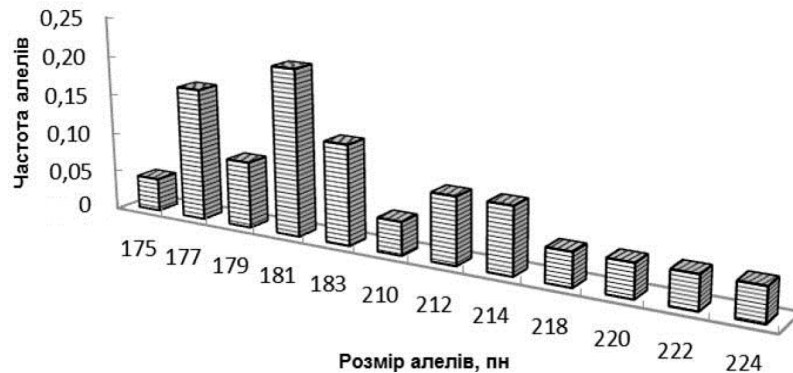


Рис. 2. Розподіл частот алелів, виявлених за маркером STM3012

жах 98–258 пн, STM3009 — 164–172, STM5136 — 240–267, для STM3012 ідентифіковано алелі 175–224 пн. Загалом отримані алелі для досліджених маркерів відповідають очікуваним розмірам та узгоджуються з результатами інших авторів [34]. Частоти визначених алелів варіювали від 0,04 до 0,33. Розподіл частот алелів за найбільш поліморфним маркером STM0019 ілюструє рис. 1.

Відповідно до отриманого розподілу, найбільшою частотою за SSR-маркером STM0019 вирізнявся алель розміром 124 пн, який ідентифіковано у чотирьох сортів: Околиця, Довіра, Явір, Скарбниця. Для інших сортів частоти алелів становили 0,08 та 0,17. За результатами ПЛР-аналізу 12 алелів, які було ідентифіковано за маркером STM3012, характеризувались розподілом частот, наведеним на рис. 2.

Найчастіше траплявся алель розміром 181 пн — 0,21, ідентифікований у сортів Дорогинь, Околиця, Лілея, Левада. Частоти алелів 177 і 183 пн становили відповідно 0,17 та 0,13. Частота інших алелів, визначених за цим маркером, була в межах 0,04–0,06. За маркерами STM3009, STM5136 частоти виявлених алелів варіювали від 0,08 до 0,25.

Відповідно до розрахунків, максимальне значення індексу поліморфності локусу 0,88 визначено для маркера STM3012. Однак і для інших досліджених локусів цей показник залишався досить високим (0,63–0,76), що зумовлено, головним чином, рівномірністю розподілу ідентифікованих алелів. Отже, згідно з розрахованими РІС, маркерна система, що складається з чотирьох SSR-маркерів, має достатню роздільну здатність для диференціації досліджених сортів картоплі.

З метою визначення подібності сортів картоплі проведено кластерний аналіз за отриманою матрицею наявності/відсутності ідентифікованих алелів. Досліджені генотипи групували у кластери за допомогою незваженого методу середніх зв'язків (unweighted pair-group average), в якому критерієм для встановлення ступеня близькості слугувало середнє значення показників генетичної близькості між членами кластера й кандидатом на включення до кластеру [18,

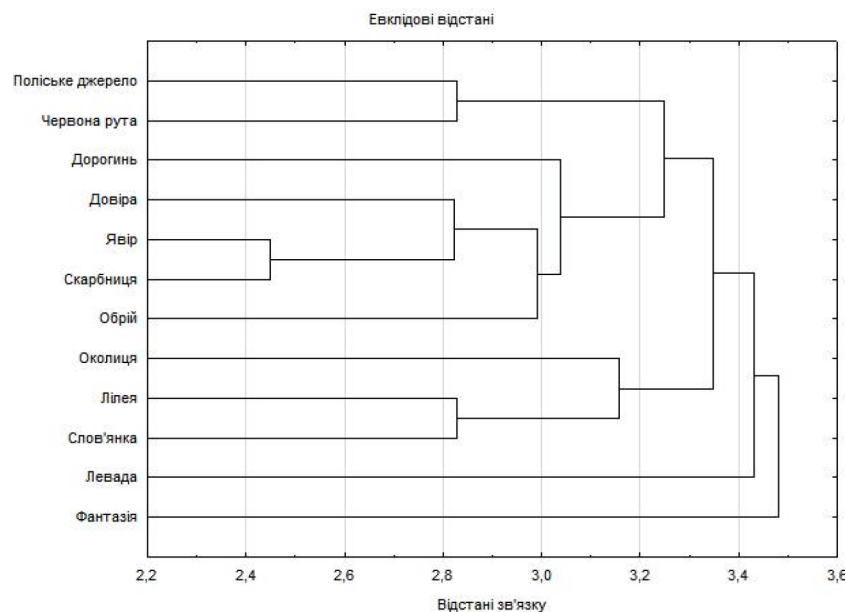


Рис. 3. Кластерний аналіз сортів картоплі за SSR-маркерами

27]. Результати кластеризації у вигляді філогенетичного дерева наведено на рис. 3.

У результаті кластеризації виділено три кластери, сформовані із сортів Поліське джерело і Червона рута, Явір і Скарбниця, Лілея і Слов'янка. Інші сорти знаходились у прилеглих до зазначених кластерів положеннях. Окремо виділено сорти Левада і Фантазія, які не належать до жодного кластеру і знаходяться найдалі від інших досліджених сортів. Слід зазначити, що хоча ці сорти достатньо відрізняються між собою, вони мають найбільшу генетичну дистанцію із сортом Довіра. Відповідно до господарсько-цінних характеристик, сорт Фантазія вирізняється з-поміж інших досліджених сортів технічно-столовим напрямом використання (див. табл. 1), що узгоджується з результатами кластерного аналізу за мікросателітними маркерами. Відомо, що об'єднання сортів за мікросателітними маркерами не завжди корелює з їх групуванням за комплексом інших морфологічних чи господарсько-цінних ознак [29]. Логічно припустити, що віддаленість цього сорту зумовлена його походженням, а звідси і комплексом ознак, які визначають напрям його використання. Найподібнішими сортами з найкоротшою генетичною дистанцією є сорти Явір та Скарбниця. Заслуговує на увагу факт, що столовий сорт картоплі Околиця, який використовують також для переробки, не увійшов до жодного зі сформованих кластерів.

Загалом вивчені сорти картоплі української селекції, що мають однакові напрям використання, вміст крохмалю чи групу стиглості, доволі різноманітні за дослідженими ДНК-маркерами. Так, середньостиглий і висококрохмальний сорт Явір та ранньостиглий і середньокрохмальний сорт Скарбниця за SSR-маркерами мають найменші значення генетичних дистанцій між собою. Разом з цим середньокрохмальний сорт Поліське джерело та висококрохмальний сорт

Червона рута, які характеризуються однаковими напрямками використання і групою стиглості, утворюють один кластер.

Отже, за результатами досліджень алельного стану мікросателітних локусів сортів картоплі української селекції встановлено наявність поліморфізму за SSR-маркерами STM0019, STM3009, STM3012, STM5136. Визначено, що PIS за дослідженими маркерами становить 0,63—0,88, це свідчить про спроможність маркерної системи до диференціації генотипів. Відповідно до отриманих генетичних дистанцій встановлено, що серед досліджених сортів картоплі найбільш віддаленими є Фантазія, Левада, Околиця і Дорогинь. Визначено, що проаналізовані сорти картоплі мають унікальний набір алелів за чотирма мікросателітними маркерами, тому їх можна застосовувати для ідентифікації сортів. Оцінювання генетичних дистанцій доцільне для визначення відмінностей та ідентифікації сортів у процесі селекції і формування референсних колекцій.

#### ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Антонова О.Ю., Гавриленко Т.А. Полиморфизм последовательностей оргanelьных ДНК видов картофеля. *Генетика популяций и эволюция*. 2006. 4, № 1. С. 2—10.
2. Дроздов В.И. Инструкция по использованию пакета Statistica 6.0. Курск, 2010.
3. Ермантраут Е.Р., Присяжнюк О.І., Шевченко І.Л. Статистичний аналіз агрономічних дослідних даних в пакеті Statistica 6.0. Київ: ПоліграфКонсалтинг, 2007. 55 с.
4. Завірюха П., Ліщинська Н. Вивчення вихідного матеріалу для селекції картоплі на комплекс цінних господарських ознак. *Вісник Львівського національного аграрного університету*. Сер. Агронімія. 2013. № 17 (2). С. 220—232.
5. Календарь Р.Н., Глазко В.И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение. *Физиология и биохимия культ. растений*. 2002. 34, № 4. С. 279—296.
6. ДСТУ 4506:2005. Картопля продовольча. Технологія вирощування. Основні положення. Київ, 2006. 19 с.
7. Киру С.Д. Генетические ресурсы картофеля для новых направлений селекции. *Науч. обеспечение и инновацион. развитие картофелеводства*. Сб. тр. ВНИИКС. Москва, 2008. С. 49—56.
8. Колтунов В.А., Сонець Т.Д., Бородай В.В., Войцешина Н.І. Оцінка конкурентоспроможності та ресурсного потенціалу сортименту картоплі в Україні. *Овочівництво і багаторічність: міжвід. тематич. наук. зб.* 2016. Вип. 62. С. 123—136.
9. Колтунов В.А., Войцешина Н.І., Фурдига М.М. Ресурсний потенціал сортименту картоплі. Київ: Вид-во Київ. нац. торг.-екон. ун-ту, 2014. 324 с.
10. Методика проведення кваліфікаційної експертизи сортів рослин на придатність до поширення в Україні. Методи визначення показників якості продукції рослинництва. Затверджена Наказом Міністерства аграрної політики та продовольства України від 12.12. 2016 р. № 540. 158 с.
11. Моргун Б.В., Степаненко О.В., Степаненко А.І., Рибалка О.І. Молекулярно-генетична ідентифікація поліморфізму генів Wx у гібридах м'якої пшениці за допомогою мультиплексних полімеразних ланцюгових реакцій. *Физиология растений и генетика*. 2015. 47, № 1. С. 25—35.
12. Олійник Т.М., Слободян С.О., Грицай Р.В. Застосування мікросателітних маркерів картоплі для філогенетичного аналізу сортів вітчизняної та зарубіжної селекції. *Картоплярство*. 2012. Вип. 41. С. 41—48.
13. Присяжнюк Л.М., Мельник С.І., Шитікова Ю.В., Сігалова І.О., Іваницька А.П. Використання SSR-маркерів для диференціації нових сортів сої (*Glycine max* (L.) Merr.) *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2017. № 3. С. 269—276.

14. Сиволап Ю.М., Кожухова Н.Е. ДНК-технології в реєстрації й охороні прав на сорти рослин. *Сортовивчення та охорона прав на сорти рослин*. 2005. № 1. С. 66–74.
15. Almeida Rocha E., Vilela Paiva L., Henrique de Carvalho H., Teixeira Guimaraes C. Molecular characterization and genetic diversity of potato cultivars using SSR and RAPD markers. *Crop Breed. and Appl. Biotechnol.* 2010. **10**. P. 204–210.
16. Chung Y.S., Palta J.P., Bamberg J., Jansky S.H. Potential molecular markers associated with tuber calcium content in wild potato germplasm. *Crop Science*. 2016. **56**, N 2. P. 576–584.
17. Cote M.-J., Leduc L., Reid A. Evaluation of simple sequence repeat (SSR) markers established in Europe as a method for the identification of potato varieties grown in Canada. *Amer. J. Potato Res.* 2013. **90**. P. 340–350. doi: <https://doi.org/10.1007/s12230-013-9310-7>.
18. Everitt B.S. Cluster Analysis (5<sup>th</sup> ed.)/S. Landau, M. Leese, D. Stahl. Chichester: Wiley, 2011. 346 p.
19. Ghebresslassie B.M., Githiri S. M., Mehari T., Kasili R. W., Ghislain M., Magembe E. Genetic diversity assessment of farmers' and improved potato (*Solanum tuberosum*) cultivars from Eritrea using simple sequence repeat (SSR) markers. *African J. of Biotechnol.* 2016. **15**, N 35. P. 1883–1891.
20. Ghislain M., Nunez J., Herrera M.R., Pignataro J., Guzman F., Bonierbale M., Spooner D.M. Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Mol. Breed.* 2009. **23**. P. 377–388. doi: <https://doi.org/10.1007/s11032-008-9240-0>.
21. Grover A., Sharma P.C. Development and use of molecular markers: past and present. *Critical reviews in biotechnology*. 2016. **36**, N 2. P. 290–302.
22. Jun T.-H., Michel A.P., Mian M.A. Development of soybean aphid genomic SSR markers using next generation sequencing. *Genome*. 2011. **54**. P. 360–367.
23. Kuhl J.C., Novy R.G., Whitworth J.L., Dibble M., Schneider B.L., Hall D.G. Development of molecular markers closely linked to the potato leafroll virus resistance gene, Rlretb, for use in marker-assisted selection. *Amer. J. Potato Res.* 2016. **93**, N 3. P. 203–212.
24. Liao H., Guo H. Using SSR to evaluate the genetic diversity of potato cultivars from Yunnan province (SW China). *Acta Biol. Cracoviensia. Ser. Botanica*. 2014. N 56/1. P. 16–27. doi: <https://doi.org/10.2478/avcsb-2014-0003>.
25. Muhinyuza J.B. Assessment of genetic relationship of promising potato genotypes grown in Rwanda using SSR markers. *Austral. J. of Crop Sci.* 2015. **9**, N 8. P. 696.
26. Mulato B.M., Moller M., Zucchi M.I., Quecini V., Pinheiro J.B. Genetic diversity in soybean germplasm identified by SSR and EST-SSR markers. *Pesq. Agropec. Bras.* 2010. **45**, N 3. P. 276–283.
27. Namorato H., Miranda G.V., de Souza L.V., Oliveira L.R., DeLima R.O., Mantovani Eder E. Comparing biplot multivariate analyses with Eberhart and Russell' method for genotype × environment interaction crop. *Breed. and Appl. Biotechnol.* 2009. N 9. P. 299–307.
28. Nie X., Sutherland D., Dickison V.L., Singh M., Murphy A.M., De Koeber D.L. Development and validation of high-resolution melting markers derived from Rysto STS markers for high-throughput marker-assisted selection of potato carrying Rysto. *Phytopathology*. 2016. **106**, N 11. P. 1366–1375.
29. Ramakrishnan A.P., Ritland C.E., Sevillano R.H.B., Riseman A. Review of potato molecular markers to enhance trait selection. *Amer. J. of Potato Research*. 2015. **92**, N 4. P. 455–472.
30. Reid A., Hof L., Felix G., Rucker B., Tams S., Milczynska E., Esselink D., Uenk G., Vosman B., Weitz A. Construction of an integrated microsatellite and key morphological characteristic database of potato varieties on the EU common catalogue. *Euphytica*. 2011. **182**. P. 239–249.
31. Reid A., Hof L., Esselink D., Vosman B. Potato cultivar genome analysis. *Methods in Mol. Biol., Plant Pathol.* 2009. **508**. P. 295–308.



32. Schönhals E., Ortega F., Barandalla L., Aragonés A., Ruiz de Galarreta J.I., Liao J.-C., Sanetomo R., Walkemeier B., Tacke E., Ritter E., Gebhardt C. Identification and reproducibility of diagnostic DNA markers for tuber starch and yield optimization in a novel association mapping population of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theor. Appl. Genetics*. 2016. **129**, N 4. P. 767–785.
33. Spooner D.M., Ruess H., Arbizu C.I., Rodríguez F., Solís-Lemus C. Greatly reduced phylogenetic structure in the cultivated potato clade (*Solanum* section *Petota* pro parte). *Amer. J. of Bot.* 2018. **105**. N 1. P. 60–70.
34. Tierno R., Ignacio Ruiz de Galarreta J. Characterization of high anthocyanin producing tetraploid potato cultivars selected for breeding using morphological traits and microsatellite markers. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 2015. P. 1–10. doi: <https://doi.org/10.1017/S1479262115000477>.

Отримано 15.03.2018

## REFERENCES

1. Antonova, O. Ju., & Gavrilenko, T.A. (2006). Polymorphism of organellar DNA sequences of potato species. *Genetika populjacij i jevoljucija*, 4, No. 1, pp. 2-10 [in Russian].
2. Drozdov, V.I. (2010). Instruction on the use of the package Statistica 6.0. Kursk: Jugo-Zapadnyj gos. un-t [in Russian].
3. Ermantraut, E.R., Priszazhnjuk, O.I. & Shevchenko, I.L. (2007). Statistical analysis of agronomic research data in the STATISTICA 6.0. package. Kyiv: Poligraf Konsalting [in Ukrainian].
4. Zavrjuha, P. & Lishhins'ka, N. (2013). Study of the source material for the selection of potatoes on a complex of valuable economic features. *Visnik L'vivs'kogo nacional'nogo agrarnogo universitetu. Ser: Agronomija*, 17, No. 2, pp. 220-232 [in Ukrainian].
5. Kalendar', R.N. & Glazko, V.I. (2002). Types of molecular genetic markers and their application. *Fiziologiya i biokhimiya kult. rastenii*, 34, No. 4, pp. 279-296 [in Russian].
6. DSTU 4506:2005. Potatoes food. Growing technology. Main provisions. Kyiv: Derzhspozhyvstandart Ukraine, 2006 [in Ukrainian].
7. Kiru, S.D. (2008). Genetic resources of potatoes for new breeding directions. In *Scientific provision and innovative development of potato growing. Proceeding VNIKH* (pp. 80-84). Moscow [in Russian].
8. Koltunov, V.A., Sonec', T.D., Borodaj, V.V. & Vojceshina, N.I. (2016). Estimation of competitiveness and resource potential of potato assortment in Ukraine. *Ovochivnictvo i bashtannictvo: mizhvid. tematich. nauk. zb.*, 62, pp. 123-136 [in Ukrainian].
9. Koltunov, V.A., Vojceshina, N.I. & Furdiga, M.M. (2014). Resource potential of a potato variety: a monograph. Kyiv: KNTEU [in Ukrainian].
10. Metodika provedennja kvalifikacijnoi ekspertizi sortiv roslin na pridatnist' do poshirennya v Ukraini (2016). Methods of determining the quality indices of crop production. Approved by the Order of the Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine from 12<sup>th</sup> December 2016, pp. 540 [in Ukrainian].
11. Morgun, B.V., Stepanenko, O.V., Stepanenko, A.I. & Rybalka, O.I. (2015). Molecular genetic identification of Wx gene polymorphism in soft wheat hybrids with multiplex polymerase chain reactions. *Fiziol. rast. genet.*, 47, No. 1, pp. 25-35 [in Ukrainian].
12. Olijnik, T.M., Slobodjan, S.O. & Gricaj, R.V. (2012). Application of microsatellite potato markers for phylogenetic analysis of varieties of domestic and foreign breeding. *Kartopljarstvo*, 41, pp. 41-48 [in Ukrainian].
13. Priszazhnjuk, L.M., Mel'nik, S.I. Shitikova, Ju.V., Sigalova, I.O. & Ivancik'ka, A.P. (2017). Use of SSR markers for the differentiation of new soybean varieties (*Glycine max* (L.) Merr.). *Sortovichenja ta ohorona prav na sorty roslin*, No. 3, pp. 269-276 [in Ukrainian].
14. Sivolap, Ju.M. & Kozhuhova, N.E. (2005). DNA technology in the registration and protection of plant variety rights. *Sortovyvchennja ta ohorona prav na sorty roslin*, 1, pp. 66-74 [in Ukrainian].

15. Almeida Rocha, E., Vilela Paiva, L., Henrique de Carvalho, H. & Teixeira Guimaraes, C. (2010). Molecular characterization and genetic diversity of potato cultivars using SSR and RAPD markers. *Crop Breed. and Appl. Biotechnol.*, 10, pp. 204-210.
16. Chung, Y.S., Palta, J.P., Bamberg, J. & Jansky S.H. (2016). Potential molecular markers associated with tuber calcium content in wild potato germplasm. *Crop Science*, 56, No. 2, pp. 576-584.
17. Cote, M.-J., Leduc, L. & Reid, A. (2013). Evaluation of Simple Sequence Repeat (SSR) Markers Established in Europe as a Method for the Identification of Potato Varieties Grown in Canada. *Amer. J. Potato Res.*, 90, pp. 340-350. doi: <https://doi.org/10.1007/s12230-013-9310-7>.
18. Everitt, B.S. (2011). *Cluster Analysis* (5<sup>th</sup> ed.) / S. Landau, M. Leese, D. Stahl. Chichester: Wiley.
19. Ghebresslassie, B.M., Palta, J.P., Bamberg, J. & Jansky, S.H. (2016). Genetic diversity assessment of farmers' and improved potato (*Solanum tuberosum*) cultivars from Eritrea using simple sequence repeat (SSR) markers. *African J. of Biotechnol.*, 15, No. 35, pp. 1883-1891.
20. Ghislain, M., Nunez, J., Herrera, M.R., Pignataro, J., Guzman, F., Bonierbale, M. & Spooner, D.M. (2009). Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. *Mol. Breeding*, 23, pp. 377-388. doi: <https://doi.org/10.1007/s11032-008-9240-0>.
21. Grover, A. & Sharma, P.C. (2016). Development and use of molecular markers: past and present. *Critical reviews in biotechnology*, 36, No. 2, pp. 290-302.
22. Jun, T.-H., Michel, A.P. & Mian, M.A. (2011). Development of soybean aphid genomic SSR markers using next generation sequencing. *Genome*, 54, pp. 360-367.
23. Kuhl, J.C., Novy, R.G., Whitworth, J.L., Dibble, M., Schneider, B.L. & Hall, D.G. (2016). Development of molecular markers closely linked to the Potato leafroll virus resistance gene, *Rlre1b*, for use in marker-assisted selection. *Amer. J. of Potato Res.*, 93, No. 3, pp. 203-212.
24. Liao, H. & Guo, H. (2014). Using SSR to evaluate the genetic diversity of potato cultivars from Yunnan province (SW China). *Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica*, No. 56/1, pp. 16-27. doi: <https://doi.org/10.2478/abcsb-2014-0003>.
25. Muhinyuza, J.B., (2015). Assessment of genetic relationship of promising potato genotypes grown in Rwanda using SSR markers. *Austral. J. Crop Sci.*, 9, No. 8, p. 696.
26. Mulato, B.M., Moller, M., Zucchi, M.I., Quecini, V. & Pinheiro, J.B. (2010). Genetic diversity in soybean germplasm identified by SSR and EST-SSR markers. *Pesq. Agropec. Bras.*, 45, No. 3, pp. 276-283.
27. Namorato, H., Miranda, G.V., de Souza, L.V., Oliveira, L.R., DeLima, R.O. & Mantovani, Eder E. (2009). Comparing biplot multivariate analyses with Eberhart and Russel' method for genotype  $\times$  environment interaction crop. *Breed. and Appl. Biotechnol.*, No. 9, pp. 299-307.
28. Nie, X., Sutherland, D., Dickison, V.L., Singh, M., Murphy, A.M. & De Koeyer, D.L. (2016). Development and Validation of High-Resolution Melting Markers Derived from *Ry sto* STS Markers for High-Throughput Marker-Assisted Selection of Potato Carrying *Ry sto*. *Phytopathology*, 106, No. 11, pp. 1366-1375.
29. Ramakrishnan, A.P., Ritland, C.E., Sevillano, R.H.B. & Riseman, A. (2015). Review of potato molecular markers to enhance trait selection. *Amer. J. of Potato Res.*, 92, No. 4, pp. 455-472.
30. Reid, A., Hof, L., Felix, G., Rucker, B., Tams, S., Milczynska, E., Esselink, D., Uenk, G., Vosman, B. & Weitz, A. (2011). Construction of an integrated microsatellite and key morphological characteristic database of potato varieties on the EU common catalogue. *Euphytica*, 182, pp. 239-249.
31. Reid, A., Hof, L., Esselink, D. & Vosman, B. (2009). Potato cultivar genome analysis. *Methods in Mol. Biol., Plant Pathol.*, 508, pp. 295-308.
32. Schönhals, E.M., Ortega, F., Barandalla, L., Aragones, A., Ruiz de Galarreta, J.I., Liao, J.-C., Sanetomo, R., Walkemeier, B., Tacke, E., Ritter, E. & Gebhardt, C. (2016). Identification and reproducibility of diagnostic DNA markers for tuber starch and yield optimization in a novel association mapping population of potato (*Solanum tuberosum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 129, No. 4, pp. 767-785.

33. Spooner, D.M., Ruess, H., Arbizu, C.I., Rodriguez, F. & Solis-Lemus, C. (2018). Greatly reduced phylogenetic structure in the cultivated potato clade (*Solanum* section *Petota* pro parte). *Amer. J. of Bot.*, 105, No. 1, pp. 60-70.
34. Tierno, R. & Ignacio Ruiz de Galarreta, J. (2015). Characterization of high anthocyanin producing tetraploid potato cultivars selected for breeding using morphological traits and microsatellite markers. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, pp. 1-10. doi: <https://doi.org/10.1017/S1479262115000477>.

Received 15.03.2018

ОЦЕНКА ПОЛИМОРФИЗМА СОРТОВ КАРТОФЕЛЯ  
(*SOLANUM TUBEROSUM* L.) УКРАИНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ  
ПО SSR-МАРКЕРАМ

*Л.М. Присяжнюк<sup>1</sup>, В.В. Бородай<sup>2</sup>, А.О. Марчук<sup>1</sup>, Н.А. Захарчук<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Украинский институт экспертизы сортов растений, Киев

<sup>2</sup>Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев

<sup>3</sup>Институт картофелеводства Национальной академии аграрных наук, пгт Немешаево Бородянского р-на Киевской обл.

Представлены результаты исследований аллельного состояния микросателлитных локусов сортов картофеля украинской селекции по четырем SSR-маркерам: STM0019, STM3009, STM3012, STM5136. Установлено, что применение SSR-маркеров является эффективным методом оценки внутривидового разнообразия картофеля и определения его различий. С целью оценки генетических дистанций проведены полимеразные цепные реакции (ПЦР) по определенным SSR-маркерам. Согласно полученным размерам аллелей рассчитаны их частоты и индексы полиморфности локуса (P<sub>IC</sub>). В исследованных сортах в зависимости от маркера были идентифицированы от 5 до 20 аллелей. Для маркера STM0019 определены аллели размером 98–258 пн, для маркера STM3009 — 164–172, STM3012 — 175–224, STM5136 — 240–267 пн. Установлено, что частота определенных аллелей составляла 0,08–0,33. В соответствии с полученным распределением, наибольшей частотой по самому полиморфному маркеру STM0019 отличался аллель размером 124 пн, который идентифицирован у четырех сортов: Околица, Довира, Явир, Скарбница. P<sub>IC</sub> составил 0,63–0,88, что свидетельствует о достаточно высокой способности данной маркерной системы к дифференциации сортов картофеля. С целью определения сходства и различия сортов проведен кластерный анализ. Исследованные генотипы группировали в кластеры с помощью невзвешенного метода средних связей. По результатам кластерного анализа в соответствии с генетическими дистанциями по четырем SSR-маркерам исследованные сорта объединены в три кластера: Полесье джерело и Червона рута, Явир и Скарбница, Лилея и Словянка. Наиболее подобными оказались сорта Явир и Скарбница, наиболее удаленными — Фантазия, Левада. Сорт Околица не вошел ни в один из сформированных кластеров, что можно объяснить его происхождением, а отсюда и комплексом признаков, которые определяют направление его использования.

THE ESTIMATION OF POLYMORPHISM IN POTATO VARIETIES (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) OF UKRAINIAN BREEDING WITH SSR-MARKERS

*L.M. Prysiazhniuk<sup>1</sup>, V.V. Borodai<sup>2</sup>, O.O. Marchuk<sup>1</sup>, N.A. Zakharchuk<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>Ukrainian Institute for Plant Variety Examination

15 Henerala Rodimtseva St., Kyiv, 03041, Ukraine

<sup>2</sup>National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine

15 Heroiv Oborony St., Kyiv, 03041, Ukraine

<sup>3</sup>Institute for Potato Research of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

22 Chkalova St., Nemishaieve, Borodianka district, Kyiv region, 07853, Ukraine

The results of the allelic state of microsatellite loci of potato varieties of Ukrainian breeding for the four SSR markers STM0019, STM3009, STM3012, STM 5136 are presented. It was established that the use of SSR markers is an effective method for evaluating the intrinsic diversity of potatoes and identifying their differences. For the purpose of genetic distances evaluating polymerase chain reaction (PCR) was performed on defined SSR markers. According to the size of the alleles, their frequencies and the polymorphic index of the locus (PIC) were calculated. According to the marker, 5 to 20 alleles in the varieties were identified. For the STM0019 marker an allele size of 98–258 bp was defined, for the STM3009 — 164–172 bp, STM3012 — 175–224 bp, STM5136 — 240–267 bp. The frequency of identified alleles was 0.08–0.33. According to the received distribution, the highest frequency for the most polymorphic marker STM0019 was revealed for 124 bp allele, that was identified in four varieties: Okolytsia, Dovira, Yavir, Skarbnitsa. The polymorphic information content of the locus (PIC) was 0.63–0.88, which indicates a sufficiently high ability of the marker system to differentiate the potato varieties. A cluster analysis was conducted to determine the similarity and diversity of varieties. Grouping into clusters of investigated genotypes was carried out using an unweighted pair group average method. According to the genetic distances for the SSR markers, the studied varieties were grouped into three clusters: Polisske dzhere-lo and Chervona ruta, Yavir and Skarbnitsa, Lileya and Slavyanka. It was determined that the most similar varieties were Yavir and Skarbnitsa. Also marked the most distant varieties — Fantazia, Levada. The variety Okolytsia was not included in any of the formed clusters, which may be explained by its origin, and hence a set of features that determine the direction of its use.

*Key words:* *Solanum tuberosum* L., SSR-markers, alleles frequency, genetic distances, varieties differentiation.