

УДК 633.15:631.527

Н. Е. ВОЛКОВА, д. б. н., с. н. с., гол. наук. співроб.,

Н. І. БУКРЕЄВА, к. б. н., наук. співроб.,

Г. І. СЛІЩУК, к. б. н., мол. наук. співроб.,

СГІ–НЦНС, Одеса

e-mail: natavolki@ukr.net

## **МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ ТА БІОІНФОРМАТИЧНИЙ АНАЛІЗ ПОЛІМОРФІЗМУ ГЕНОМУ КУКУРУДЗИ (*Zea mays* L.): РЕЗУЛЬТАТИ 25 РОКІВ ДОСЛІДЖЕНЬ В СГІ–НЦНС**

*Досліджені різні фракції ядерного геному кукурудзи за молекулярними маркерами з метою диференціації, ідентифікації та реєстрації ліній/гібридів, маркування генів/локусів господарсько цінних ознак, прогнозування гетерозису.*

Ключові слова: *геном, молекулярні маркери, кукурудза, біотехнологія.*

**Вступ.** За масштабами поширення, універсальністю використання та енергетичної поживності кукурудза є однією з найважливіших продовольчих, кормових і технічних культур. Україна традиційно є однією з провідних країн світу з вирощування кукурудзи. Це обумовлено, насамперед, вигідним географічним розташуванням і сприятливими ґрунтово-кліматичними умовами. З появою нових біотехнологічних підходів у селекції рослин значення кукурудзи в світі та в Україні, зокрема, зростає ще більше.

В Україні молекулярно-генетичні дослідження геному кукурудзи започатковано академіком Ю. М. Сиволапом в Селекційно-генетичному інституті (м. Одеса). Результати вивчення організації та мінливості геному кукурудзи, що отримано до «ери ДНК-маркерів», узагальнено в монографії [1]. Аналіз поліморфізму різних фракцій геному кукурудзи за молекулярними маркерами методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) проводився під керівництвом академіка Ю. М. Сиволапа з початку 1990-х років.

Відносно молода галузь знань біоінформатика вже продемонструвала свою ефективність як потужний інструмент молекулярно-генетичних досліджень. Вона дозволяє робити теоретичні припущення з великою долею достовірності та значним прогностичним потенціалом. Вперше біоінформатичні дослідження кукурудзи, зокрема, дослідження структури та функціональних особливостей ядерного геному, також розпочато під керівництвом академіка Ю. М. Сиволапа.

**Мета** даної роботи полягала в узагальненні результатів дослідження різних ділянок ядерного геному кукурудзи за молекулярними маркерами для оцінки генетичного різноманіття, ідентифікації та реєстрації ліній/гібридів, маркування генів/локусів господарсько цінних ознак, прогнозування гетерозису.

**Матеріал і методи.** Для дослідження генетичного різноманіття використовували 145 інбредних ліній і 43 гібриди кукурудзи.

Для маркування локусів кількісних ознак використано елітні інбредні лінії ГК 26, Мо17, Одеська 308 МВ, Одеська 221 МВ, Одеська 329 та популяцію (ГК26 × Мо17)  $F_2$ . Подальший інбридинг популяції (ГК26 × Мо17)  $F_2$ – $F_6$  здійснювали шляхом індивідуальної ізоляції з самозапиленням кожної дібраної рослини.

Екстракція ДНК з проростків та листя, постановка полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), гель-електрофорез в агарозних і поліакриламідних гелях здійснювали за загальноприйнятими методиками. Інформація щодо мікросателітних (МС) локусів та послідовностей праймерів наведена в електронній базі даних з генетики кукурудзи MaizeGDB.

**Результати.** Перші молекулярно-генетичні дослідження присвячені аналізу «поведінки» ПЛР-фрагментів в  $F_1$ -гібридах кукурудзи у порівнянні з батьківськими генотипами [2] та аналізу внутрішньовидової мінливості з використанням різних типів молекулярних маркерів на основі ПЛР [3–6]. За результатами тестування понад 100 МС локусів сформовано систему 20 молекулярних маркерів (за критеріями — локалізація локусів на різних хромосомах, значення індексу поліморфності (polymorphic index content, PIC) не менше 0,5, розмір повтору не менше 3 п. н., відтворюваність результатів).

Першим етапом досліджень є оцінка генетичної чистоти ліній та гібридів. Проведено тестування 145 інбредних ліній і 43 гібридів за трьома високополіморфними МС локусами phi064, phi079, phi015. Встановлено, що гетерогенність деяких ліній та гібридів не є генетично зумовленою. Проведено «вibraковування» нетипових зразків [7].

**Диференціація, ідентифікація, реєстрація ліній та гібридів.** За 20 МС локусами проаналізовано 188 ліній та гібридів кукурудзи, для кожного генотипу отримано унікальні комбінації алелів МС локусів, що дозволило представити кожний генотип у вигляді так званої «ідентифікаційної формули». МС локус кодовано буквою англійського алфавіту (А-Т). Як нижній індекс використано розмір алеля даного локусу у парах нуклеотидів. 188 ліній та гібридів кукурудзи зафіксовано ідентифікаційними формулами [8–12].

Оцінено генетичне різноманіття ліній за допомогою молекулярних маркерів для виявлення можливості *прогнозування гетерозису* простих гібридів. З використанням полілокусної маркерної системи, яка дозволяє одночасно охарактеризувати велику кількість локусів, а саме ПЛР-аналізу ділянок між МС повторами, проаналізовано 15 ліній середньої групи стиг-

лості. За значенням генетичних дистанцій ( $D$ ) між лініями пари ліній розділені на чотири групи. Проведено діалельне схрещування вихідних ліній і отримано дані врожаю зерна ліній та відповідних гібридів, які використано для розрахунку дійсного гетерозису гібридів. Порівняли групування ліній за генетичними дистанціями з рівнем гетерозису та виявили достовірну кореляцію між цими показниками. За припущенням впливу на прояв гетерозису сполучення алелів певних локусів, проведено ПЛР-аналіз 20 МС локусів. Порівняння алельного складу МС локусів лінії та середнього рівня гетерозису гібридів, отриманих від схрещування даної лінії з рештою, показало достовірну кореляцію за дев'ятьма МС локусами. Це дало можливість записати модельні ідентифікаційні формули ліній, що мають імовірно різну комбінаційну здатність. Для перевірки цього припущення порівняли формули модельної лінії з високим рівнем комбінаційної здатності, ліній-стандартів і проаналізованих ліній, гібриди від схрещування яких з рештою проявили середній рівень гетерозису вище 149 %. Лініями-стандартами були найбільш розповсюджені лінії, що входять до складу гібридів — національних стандартів середньої групи стиглості, до якої відносять і аналізовані нами лінії. Однаковий алельний склад більшості МС локусів у ліній-стандартів, модельної лінії і досліджених ліній, гібриди яких мали високий рівень гетерозису, підтвердив можливість використання даного підходу для прогнозування отримання високогетерозисних гібридів у комплексі з оцінкою генетичних дистанцій між вихідними лініями [13].

*Молекулярно-генетичний аналіз генів/локусів, пов'язаних з агрономічно важливими ознаками.* Для супроводу традиційної селекції добором за молекулярними маркерами необхідна ідентифікація генів/локусів цільової ознаки, зокрема толерантності до абіотичних та біотичних факторів навколишнього середовища, пов'язаних з кількістю та якістю врожаю зерна *etc.*

Одним з найбільш шкочинних патогенів кукурудзи є гриби роду *Fusarium*. З використанням BSA-підходу (Bulked Segregant Analysis) проведено генотипування  $F_2$ -популяції, отриманої від схрещування ліній кукурудзи Одеська 139 і R221, контрастних за стійкістю до фузаріозних гнилей. За допомогою різних типів молекулярних маркерів (ПЛР із 38 парами SSR-, п'ятьма STS-, 24 ISSR- та 23 довільними праймерами) тестовано ДНК ліній Одеська 139 і R221 та сумішей доміантних і рецесивних гомозиготних  $F_2$ -зразків на наявність поліморфізму. В результаті досліджень визначено локус RGA11, який зчеплений з локусом стійкості до фузаріозної гнилі на відстані 18,3 сМ [14–16].

У насінництві кукурудзи широко використовується явище цитоплазматичної чоловічої стерильності (ЦЧС). Досліджено поліморфізм ділянок мітогеному, асоційованих з розвитком ЦЧС трьох типів (техаського, молдавського, чаруа), підтверджено їхній зв'язок з певним типом ЦЧС. Проведено молекулярно-генетичний аналіз поліморфізму гена *whp1*, що входить до складу кластера гена-відновлювача фертильності пилку мол-

давського типу. Нами розроблено маркери VSG1A та VSG1C доміантного та рецесивного алелів гена *Rf3*: перший специфічний для регіону промотору, другий — для регіону інтрону. Отже, розроблено маркерну систему для комплексної оцінки генотипів кукурудзи за ознаками ЦЧС та відновлення фертильності пилку [17–21].

В умовах глобального потепління для підвищення врожайності кукурудзи в екстремальних умовах важливо використовувати гібриди, толерантні до високотемпературного стресу, який поєднується з дефіцитом вологи. За допомогою ПЛР-аналізу досліджено молекулярно-генетичний поліморфізм *hsp*-генів, які кодують білки теплового шоку, зокрема і шаперони (*cpn*-гени): *hsp3*, *hsp90*, *hsp101*, *cpn10*, *hsp18a*, *hsp26/1*. Визначені набори алелів досліджених локусів, найбільш характерні для стійких і нестійких до посухи ліній кукурудзи [22].

Забезпечення людства якісним повноцінним харчуванням, збалансованим за складом і вмістом необхідних для організму елементів, є однією з найважливіших проблем сучасності. Нами розпочато молекулярно-генетичні дослідження генів, що пов'язані з біохімічним складом зерна кукурудзи, зокрема тих, що кодують ферменти синтезу каротиноїдів та крохмалю.

*Маркування локусів кількісних ознак (Quantitative Trait Loci, QTL).* Вивчено мінливість кількісних агрономічно цінних ознак, серед яких ті, що формують габітус рослини, ознаки морфології волоті, складові продуктивності та біохімічні, на гібридних популяціях (ГК26 x Мо17)  $F_2$  та  $F_3$  з використанням SSR-, RAPD- та ISSR-маркерів. Отримані маркери використано для розроблення технології прогнозування рівня розвитку кількісних ознак у популяціях кукурудзи на підставі їхнього зв'язку з ДНК-маркерами [23–27]. Детально цю роботу викладено у статті А. О. Белоусова з співавторами у цьому збірнику.

У рамках вивчення успадковування кількісної ознаки «урожайність зерна» у пізніх генераціях популяції кукурудзи рекомбінантних інбредних ліній (РІЛ) (ГК 26 x Мо17)  $F_4$ ,  $F_6$  та з метою маркування QTL продуктивності кукурудзи ідентифіковано генотипи інбредних батьківських ліній ГК26 і Мо17 за 47 МС локусами. Для подальшої роботи відібрано 10 локусів з чітко відтворюваними продуктами ампліфікації: *nc030*, *phi061*, *phi064*, *phi083*, *phi031*, *phi044*, *phi057*, *phi084*, *phi080*, *phi112*, що детектували поліморфізм у батьківських форм РІЛ, ліній ГК 26 і Мо17 у 8 хромосомах. За генотипування визначено алельний стан поліморфних SSR-локусів у РІЛ  $F_4$  та  $F_6$ , детектованих у вихідних форм ГК26 і Мо17.

З використанням підходів, описаних у [28], проведено маркування QTL у популяції РІЛ  $F_4$ ,  $F_6$ . Встановлено маркерні локуси, зчеплені з локусами, що асоціюються з відмінностями у прояві кількісних ознак. Пошук асоціацій 10 МС локусів з ознакою «урожайність зерна», детектованих у  $F_4$  та  $F_6$ , проводилися у різних умовах вирощування гібридів: ДГ «Дачна», 2005 р.; ДГ «Дачна», 2006 р.; ДГ «Новоселівське», 2006 р.

У тестерних гібридів РІЛ  $F_4$  з Од 308 МВ маркерними є алелі SSR-локусів з визначеною молекулярною масою: *phi 044\_76* (2,68); *nc 030\_112* (5,34); *phi 057\_158* (4,25); *phi 080\_158* (4,47); *phi 044\_72* (4,63); *phi 044\_76* (4,00); *phi 064\_86* (3,38); *phi 112\_161* (4,50); *phi 112\_137* (4,00). Визначені маркери, що детектують мінливість дослідної ознаки у тестерних гібридів РІЛ  $F_4$  з Од 329: *phi 031\_191* (3,68) *nc 030\_108* (3,68); *nc 030\_108* (5,36); *phi 084\_155* (5,66); *phi 083\_130* (3,56); *phi 061\_80* (5,98); *phi 064\_86* (3,57); *phi 064\_78* (6,57); *phi 112\_137* (4,41).

У гібридів РІЛ  $F_6$  з Од 308 МВ маркерними є локуси *phi 061\_80* (2,88); *phi 112\_161* (3,16); *phi 064\_86* (2,78); *phi 061\_80* (4,64); *phi 057\_154* (4,84); *phi 064\_86* (4,49); *phi 083\_161* (4,50). Маркери, що детектують мінливість дослідної ознаки у тестерних гібридів РІЛ  $F_6$  з Од 329: *nc 030\_108* (5,93); *nc 030\_108* (4,79); *phi 084\_159* (5,96); *phi 083\_130* (5,99); *phi 064\_86* (5,64); *phi 064\_86* (5,11); *phi 112\_161* (4,99) [29–32].

Отримані маркери використано для розробки схеми прогнозування групи гібридів з максимальною врожайністю, дібраних за маркерами QTL урожайності зерна на основі формування класів у популяціях РІЛ  $F_4$ ,  $F_6$  за генетичною дистанцією відносно ліній-тестерів Од 308 МВ, Од 221 МВ і Од 329, що дозволяє скорочувати обсяги сортовипробування і створення потенційно цінних генотипів [33].

Найбільш надійними маркерами можна вважати локуси, з якими зберігається достовірний зв'язок їхніх алелів з певним рівнем розвитку кількісної ознаки протягом кількох поколінь. Отримання кількох маркерних локусів для певної ознаки є найбільш об'єктивною інформацією з огляду на кількісний характер вивчених ознак. Такі маркерні локуси можуть міститися у різних хромосомах або ж успадковуватися як одне ціле у випадку попадання в одну групу зчеплення.

Дані з маркування кількісних ознак за результатами досліджень 2000–2006 років узагальнено у таблиці. Результати демонструють, що детектовані у сегрегуючих популяціях маркери ознак групи продуктивності одночасно є маркерами ознаки «урожайність зерна». Тобто, у  $F_4$  і  $F_6$  не відбулося відокремлення цих локусів у ході рекомбінації. За даними [34, 35] це свідчить про те, що між цими локусами і QTL продуктивності встановився значний зв'язок і таке зчеплення можна використовувати у якості надійного маркера для добору потенційно високопродуктивних форм.

Порівняння інформативності маркерних локусів у суміжних сегрегуючих популяціях ( $F_2$ - $F_3$ ) та несуміжних РІЛ з популяцій  $F_4$ ,  $F_6$  дозволило виявити МС маркери QTL, що впливають на формування ознак продуктивності кукурудзи у різних умовах вирощування. Найбільш інформативним за кількістю відтворених асоціацій з ознаками продуктивності протягом п'яти поколінь ( $F_2$ - $F_6$ ) виявився маркер *nc 030\_108*. Він відображає мінливість локусів, що впливають на формування таких ознак продуктивності: «маса 100 зерен», «глибина зернини», «довжина качана»,

Таблиця

Результати маркування ознак продуктивності у популяціях (ГК26 / Мо17)  $F_2$ - $F_6$ 

Маркерний локус	Ознака, маркована у РІЛ $F_4$ і $F_6$	Ознака, маркована у РІЛ $F_2$ і $F_3$			
	урожайність зерна	маса 100 зерен	довжина качана	глибина зернини	індивідуальна продуктивність
phi044	+	–	–	–	–
nc030	+, #	*	–	*	*
phi084	+, #	–	–	–	–
phi061	+, #	–	*	*	*
phi057	+, #	–	–	–	–
phi031	+	–	–	–	–
phi080	+	–	–	–	–
phi112	+, #	–	–	–	–
phi083	+, #	*	*	*	*
phi064	+, #	–	*	*	*

Примітки: + — зчеплення маркерних локусів у РІЛ  $F_4$ ; # — зчеплення маркерних локусів у РІЛ  $F_6$ ; \* — зчеплення маркерних локусів у популяціях  $F_2$ ,  $F_3$ ; — — відсутність асоціації.

«індивідуальна продуктивність» та «урожайність зерна». Маркер *phi 064\_86* пов'язаний з локусами, що впливають на мінливість двох ознак — «глибина зернини» і «урожайність зерна». Такі асоціації можуть свідчити про зчеплення даних локусів зі специфічними генами продуктивності. А враховуючи контрастні умови вирощування цих популяцій, збереження маркуючої здатності поліморфних локусів ДНК, можна вважати суттєвим доказом тісного зчеплення маркера з локусом кількісної ознаки.

Отже, у батьківських компонентів виявлено МС локуси, тісно пов'язані з ознаками продуктивності. Отримані результати пропонується застосовувати для індивідуального генотипового прогнозування розвитку певних агрономічних ознак, що дозволяє значно прискорити добір потрібного матеріалу вже за рік, починаючи з  $F_2$ , та для моделювання добору генотипів з високим рівнем розвитку ознак у субпопуляціях за маркерними алелями, що дозволить генетично поліпшувати базові популяції кукурудзи і використовувати їх як вихідний матеріал для гетерозисної селекції.

На сучасному етапі молекулярні маркери, розроблені в результаті дослідження поліморфізму різних ділянок геному кукурудзи, дозволяють проводити комплексну оцінку лінії чи гібрида кукурудзи — його генетичної чистоти, гетерозисного потенціалу, аутентичності, наявності генів певних агрономічно важливих ознак. Супровід традиційної селекції добром за молекулярними маркерами свідчить про сучасний та якісно новий рівень селекційного процесу.

*Біоінформатичний аналіз геному кукурудзи.* Біоінформатичні підходи використано для комплексного аналізу геному кукурудзи як для дослідження особливостей еволюції певних генів, їх філогенії, пошуку мікросателітів, інших повторів, поліморфних ділянок генів, дизайну праймерів, *in silico* ПЛР, також і для моделювання — вторинних структур протеїнів транскриптів, їх взаємодій.

Так, повний комплексний аналіз генів *Rf1* та *Rf2*, що відповідають за відновлення фертильності пилку у кукурудзи з техаським типом ЦЧС, дозволив нам вивчити їхні філогенію та особливості еволюції [36–38]. Знайдено, що ген *Rf1* належить до родини генів, що кодують білки з пентатрикопептидним мотивом, розроблений унікальний дизайн праймерів, що дозволяє диференціювати домінуючі та рецесивні алелі цих генів. Також саме біоінформатичний аналіз дозволив провести комплексне вивчення гена *whp1* з кластера гена-відновлювача фертильності пилку молдавського типу. Досліджено його філогенію, знайдено нові мікросателіти в промоторній та інтронній ділянках цього гена, розроблений дизайн шести пар праймерів до промотору, інтрону та екзону. Окрім того, саме за допомогою моделювання вторинної структури транскриптів інтрону цього гена, а також моделювання взаємодії цих транскриптів з ЦЧС-асоційованими транскриптами розроблено гіпотетичний механізм відновлення фертильності у кукурудзи з молдавським типом ЦЧС [39, 40].

Методами біоінформатики досліджували гени, що асоційовані зі структурою ендосперму кукурудзи. Так, вивчено ген *waxy1* кукурудзи, особливості його еволюції, поліморфізм, виявлено вплив на нього доместикації; розроблено дизайн праймерів, досліджено вторинну структуру мобільного елемента *Ds*, що локалізований в гені *waxy1* [41–43]. Проаналізовано також поліморфізм генів *Brittle1*, *Brittle2*, *shrunk1* [44, 45].

Біоінформатичні підходи застосовано у дослідженні гена фітоінсинтази кукурудзи, що асоційований з концентрацією каротиноїдів у зерні. Досліджено патерни нуклеотидних замін цього гена, нейтральність еволюції та потужність добору за певними кодонами за аналізом синонімічних та несинонімічних замін; розроблено дизайн праймерів, проведено моделювання структури активного центру даного ензиму [46–48].

Результати наведених молекулярно-генетичних та біоінформатичних досліджень знайшли вихід як молекулярні біотехнології для практичного застосування в селекції та насінництві кукурудзи, пріоритет яких захищено патентами України на винахід або корисну модель.

**Висновки.** Молекулярні маркери, розроблені в результаті дослідження поліморфізму різних ділянок геному кукурудзи, дозволяють проводити комплексну оцінку лінії чи гібрида кукурудзи: його генетичної чистоти, гетерозисного потенціалу, аутентичності, наявності генів певних агрономічно важливих ознак. Супровід традиційної селекції добором за молекулярними маркерами свідчить про сучасний та якісно новий рівень селекційного процесу.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Сиволап Ю. М. Геном растений и его улучшение / Ю. М. Сиволап. — К. : Урожай, 1994. — 191 с.
2. Кожухова Н. Э. Наследование продуктов амплификации ДНК у  $F_1$ -гибридов кукурузы и подсолнечника / Н. Э. Кожухова, А. Е. Солоденко, Ю. М. Сиволап // Цитология и генетика. — 1998. — № 4. — С. 26–31.
3. Сиволап Ю. М. Исследование генетических взаимоотношений у линий кукурузы при помощи RAPD и зеинов / Ю. М. Сиволап, Н. Э. Кожухова, Ю. А. Асыка // Цитология и генетика. — 1997. — Т. 31, № 1. — С. 16–20.
4. Вербицкая Т. Г. Дифференциация линий кукурузы при помощи молекулярных маркеров / Т. Г. Вербицкая, Н. Э. Кожухова, Д. И. Гужва и др. // Кукуруза и сорго. — 1997. — № 6. — С. 7–11.
5. Кожухова Н. Э. Молекулярно-генетический полиморфизм кукурузы / Н. Э. Кожухова, Т. Г. Вербицкая // Научно-методическое руководство «Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях» / под ред. Ю. М. Сиволапа. — К. : Аграрна наука, 1998. — С. 96–102.
6. Ефименко В. Г. Полиморфизм микросателлитной ДНК и изучение генетических ресурсов кукурузы / В. Г. Ефименко, Н. Э. Кожухова, Ю. М. Сиволап // Цитология и генетика. — 2005. — № 2. — С. 10–15.
7. Кожухова Н. Э. Определение «гибридности» простых гибридов кукурузы методом SSR-ПЦР / Н. Э. Кожухова, Ю. М. Сиволап, Б. Ф. Вареник // Цитология и генетика. — 2001. — Т. 35, № 2. — С. 43–48.
8. Сиволап Ю. М. Идентификация инбредных линий кукурузы с помощью произвольно праймированной ПЦР и SSR-ПЦР / Ю. М. Сиволап, Н. Э. Кожухова, Б. Ф. Вареник // Доклады РАСХ. — 1999. — № 6. — С. 3–6.
9. Kozhukhova N. Maize genotypes differentiation, identification and registration by SSR-markers / N. Kozhukhova, Yu. Sivolap // Report on the Seventh Session of Working Group on Biochemical and Molecular Techniques and DNA-Profiling in Particular (BMT) of UPOV. — Hanover, Germany. 21–23.11.2001. Document BMT/7/19. — 2002. — Annex III. — P. 11–15.
10. Кожухова Н. Э. Молекулярно-генетическая характеристика инбредных линий и простых гибридов кукурузы *Zea mays* L. / Н. Э. Кожухова, Ю. М. Сиволап, Б. Ф. Вареник // Збірник наукових праць «Фактори експериментальної еволюції організмів». — 2003. — С. 345–350.
11. Кожухова Н. Э. Идентификация и регистрация генотипов кукурузы при помощи молекулярных маркеров / Н. Э. Кожухова, Ю. М. Сиволап // Генетика. — 2004. — Т. 40, № 1. — С. 59–66.
12. Ефименко В. Г. Молекулярно-генетична характеристика генотипів кукурудзи за складом мікросателітних локусів / В. Г. Ефименко, Н. Е. Кожухова, Ю. М. Сиволап // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. — 2006. — Т. 4, № 1. — С. 21–30.
13. Кожухова Н. Э. Прогнозирующий потенциал ДНК-маркеров в гетерозисной селекции кукурузы / Н. Э. Кожухова, Б. Ф. Вареник, Ю. М. Сиволап // Цитология и генетика. — 2005. — № 1. — С. 14–20.
14. Кожухова Н. Е. Ідентифікація локусів геному кукурудзи, що детермінують стійкість до фузаріозної гнилі / Н. Е. Кожухова, Ю. М. Сиволап, Б. Ф. Вареник // Збірник наукових праць «Фактори експериментальної еволюції організмів». — 2006. — Т. 3. — С. 113–117.

15. Кожухова Н. Е. Маркування локусів, що детермінують стійкість кукурудзи до фузаріозних гнилей / Н. Е. Кожухова, Ю. М. Сиволап, Б. Ф. Вареник [та ін.] // Цитология и генетика. — 2007. — № 2. — С. 37–41.
16. Кожухова Н. Е. ДНК-маркер стійкості кукурудзи до фузаріозних гнилей та роль мобільних елементів в стійкості до фітопатогенів / Н. Е. Кожухова, Ю. М. Сиволап // Вісник ОНУ (Біологія). — 2007. — Т. 12, вип. 5. — С. 148–156.
17. Сліщук Г. І. Молекулярно-генетичний аналіз регіонів мітохондріону, асоційованих з ЦЧС, у кукурудзи / Г. І. Сліщук, Н. Е. Кожухова, Ю. М. Сиволап // Цитология и генетика. — 2011. — Т. 45, № 3. — С. 15–19.
18. Сліщук Г. І. Біоінформатичний аналіз вторинної структури транскриптів інтрона 1 гена *whp1* кукурудзи / Г. І. Сліщук, Н. Е. Волкова, Ю. М. Сиволап // Biopolymers and Cell. — 2012. — Vol. 28, № 2. — P. 156–160.
19. Slischuk G. Maize restorer of fertility genes analysis by PCR-markers / G. Slischuk, N. Volkova // Збірник наукових праць СГІ–НЦНС. — 2013. — Вип. 21 (61). — С. 155–161.
20. Сліщук Г. І. Аналіз локусів, асоційованих з відновленням фертильності ЦЧС техаського типу кукурудзи / Г. І. Сліщук, Н. Е. Волкова // Наукові доповіді НУБіП України. — 2014. — Т. 48. — № 6. — Електронне видання.
21. Slischuk G. Molecular-genetics analysis of maize *whp1* gene and determination of its effect on pollen fertility restoring / G. Slischuk, N. Volkova // Modern Science. — 2014. — № 3. — P. 10–17.
22. Луцик А. П. Гени, що кодують білки теплового шоку кукурудзи: структура та поліморфізм / А. П. Луцик, Н. Е. Кожухова, Ю. М. Сиволап // Збірник наукових праць «Фактори експериментальної еволюції організмів». — 2008. — Т. 4. — С. 173–177.
23. Belousov A. A. Heterosis of maize hybrids developed using DNA technologies / A. Belousov, V. M. Sokolov, Y. M. Sivolap [et al.] // Acta Agronomica Hungrica. Budapest. — 2006. — P. 391–396.
24. Доменюк В. ДНК-маркирование количественных признаков кукурузы / В. Доменюк, А. Белоусов, Ю. Сиволап // Цитология и генетика. — 2002. — № 6. — С. 12–19.
25. Доменюк В. Маркерный анализ количественных признаков кукурузы при помощи ISSR-ПЦР / В. Доменюк, Т. Вербицкая, А. Белоусов, Ю. Сиволап // Генетика. — 2002. — Т. 38, № 9. — С. 1–9.
26. Доменюк В. П. Добір за ДНК-маркерами локусів кількісних ознак в селекції кукурудзи / В.П. Доменюк, А. О. Белоусов, Ю. М. Сиволап // Вісник Харківського національного аграрного університету. — 2003. — № 3 (2). — С. 87–91.
27. Патент України на винахід № 86180. Спосіб прогнозування рівня розвитку кількісних ознак у популяціях злакових культур / А. О. Белоусов, Ю. М. Сиволап, В. М. Соколов, В. П. Доменюк // Південний біотехнологічний центр в рослинництві. Дата публ. 10.04.2009 р. Бюл. № 7.
28. Tanksley S. D. Mapping polygenes / S. D. Tanksley // Annu. Rev. Genet. — 1993. — Vol. 27. — P. 205–233.
29. Сторчеус Н. І. Створення та ПЛР-аналіз генетичного матеріалу в дослідженні гетерозису кукурудзи / Н. І. Сторчеус, А. О. Белоусов, Ю. М. Сиволап // Вісник ОНУ. — С. 55.

30. Букреєва Н. І. Кластерно-кореляційний аналіз популяцій рекомбінантних ліній і гібридів кукурудзи на основі SSR-ПЛР / Н. І. Сторчеус, А. О. Белоусов, Ю. М. Сиволап // Вісник ОНУ. — 2011. — Т. 16, вип. 6. — С. 23–33.
31. Букреєва Н. І. ДНК-прогнозування добору батьківських генотипів для отримання високопродуктивних гібридів кукурудзи / Н. І. Букреєва, А. О. Белоусов, В. М. Соколов, Ю. М. Сиволап // Збірник наукових праць СГІ–НЦНС. — 2012. — Вип. 19 (59). — С. 82–93.
32. Букреєва Н. І. Алельний склад поліморфних локусів ліній і гібридів та його зв'язок з рівнем гетерозису у кукурудзи / Н. І. Букреєва, А. О. Белоусов, Ю. М. Сиволап // Цитология и генетика. — 2014. — Т. 48, № 2. — С. 12–19.
33. Деклараційний патент України на корисну модель № 72116. Спосіб ДНК-прогнозування добору батьківських компонентів для отримання високопродуктивних гібридів кукурудзи / А. О. Белоусов, Ю. М. Сиволап, В. М. Соколов, Н. І. Букреєва // Південний біотехнологічний центр в рослинництві. Дата публ. 10.08.12, Бюл. № 15.
34. Schrag T. A. Molecular marker-based prediction of hybrid performance in maize using unbalanced data from multiple experiments with factorial crosses / T. A. Schrag, A. E. Melchinger // Theor. Appl. Genet. — 2009. — Vol. 118. — P. 741–751.
35. Albrecht T. Genome-based prediction of maize hybrid performance across genetic groups, testers, locations, and year / T. Albrecht, H.-P. Piepho, C.-C. Schön // Theor. Appl. Genet. — 2014. — Vol. 127. — P. 1375–1386.
36. Сліщук Г. І. Біоінформатичний аналіз генів мітохондріальних альдегіддегідрогеназ представників родини *Poaceae* / Г. І. Сліщук, Н. Е. Кожухова // Збірник наукових праць «Фактори експериментальної еволюції організмів». — Київ: Логос, 2011. — Т. 9. — С. 93–97.
37. Слищук Г. И. Филогенетический анализ митохондриальной альдегиддегидрогеназы кукурузы (*Zea mays* L.) / Г. И. Слищук // XVIII Міжнародна наукова конференція студентів, аспірантів та молодих вчених «ЛОМОНОСОВ». — РФ, Москва, 11–15.04.2011 р. — С. 37–38.
38. Slischuk G. Polymorphism of maize *Rf1* locus, revealed by bioinformatics method / G. Slischuk // V Міжнародна конференція молодих вчених «Біорізноманіття. Екологія. Адаптація. Еволюція». — Одеса, 13–17.06.2011 р. — С. 124–125.
39. Сліщук Г. І. Біоінформатичний аналіз *whp1* гена кукурудзи (*Zea mays* L.) / Г. І. Сліщук, Н. Е. Кожухова // Міжнародна конференція «Сучасна біотехнологія сільськогосподарських рослин та біобезпека» («Геном рослин VI»). — Одеса, 07–10.09.2010 — С. 55.
40. Сліщук Г. І. Щодо можливого механізму відновлення фертильності у кукурудзи з молдавським і техаським типом ЦЧС / Г. І. Сліщук, Н. Е. Волкова // Всеукраїнська наукова конференція молодих вчених «Інновації в сучасній селекції та генетиці сільськогосподарських культур». — Одеса, 28–30.10.2014 р. — С. 65–66.
41. Баранов Ю. О. Біоінформатичний аналіз гена, що кодує гранулоасоційовану крохмальсинтазу, кукурудзи / Ю. О. Баранов, Г. І. Сліщук, Н. Е. Волкова [та ін.] // Цитология и генетика. — 2014. — Т. 48, № 3. — С. 18–23.
42. Baranov Y. Bioinformatic analysis of maize *waxy1* gene / Y. Baranov, G. Slischuk, N. Kozhukhova // The 4th International IMBG conference for young scientists «Molecular biology: advances and perspectives», Kyev, 14–17.09.2011. — P. 202.

43. Baranov Y. Maize waxy gene and Ds mobile element secondary structure polymorphism / Y. Baranov, G. Slischuk, N. Volkova // 54th Annual Maize Genetics Conference, Portland, USA, 15–18.03.2012. — P. 202.
44. Baranov Y. Maize *Brittle1* and *Brittle2* genes polymorphisms bioinformatic analysis / Y. Baranov, G. Slischuk, N. Volkova, Y. Sivolap // 55th Annual Maize Genetics Conference, St. Charles, USA, 14–17.03.2013. — P. 114.
45. Баранов Ю. О. Філогенетичний аналіз гена *shrunken1* кукурудзи / Ю. О. Баранов, Г. І. Сліщук, Н. Е. Волкова та ін. // Збірник наукових праць IX з'їзду УТГіС «Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології». — 2012. — Т. 4. — С. 18–22.
46. Жуков Б. С. Біоінформатичний аналіз *y1* гена кукурудзи / Б. С. Жуков, Г. І. Сліщук // III Міжнародна наукова конференція студентів, аспірантів і молодих вчених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології», Донецьк, 24–27.02.2014 р. — С. 245–246.
47. Жуков Б. С. Аналіз поліморфізму гена *y1* кукурудзи біоінформатичними методами / Б. С. Жуков, Г. І. Сліщук // Всеукраїнська наукова конференція молодих вчених «Інновації в сучасній селекції та генетиці сільськогосподарських культур», Одеса, 28–30.10.2014 р. — С. 51–52.
48. Жуков Б. С. Філогенетичний аналіз *y1* гена кукурудзи / Б. С. Жуков, Г. І. Сліщук, Н. Е. Волкова // Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки. — 2014. — № 2. — С. 7–14.

Надійшла 13.05.2015.

UDC 633.15:631.527

**Volkova N., Bukreeva N., Slischuk G.** Plant Breeding and Genetics Institute — National Center of Seed and Cultivar Investigations

### **MOLECULAR-GENETICS AND BIOINFORMATIC ANALYSIS OF MAIZE (*Zea mays* L.) GENOME POLYMORPHISM: RESULTS OF 25 YEARS' RESEARCH IN PBGI-NCSCI**

As a result of molecular-genetic and bioinformatic research of maize genome different regions polymorphism molecular markers developed that allow for a comprehensive definition of maize line or hybrid: its genetic purity, heterosis potential, authenticity, presence of genes of certain agronomically important traits.

УДК 633.15:631.527

**Волкова Н. Э., Букреева Н. И., Слищук Г. И.**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ И БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ  
АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОМА КУКУРУЗЫ (*Zea mays* L.):  
РЕЗУЛЬТАТЫ 25 ЛЕТ ИССЛЕДОВАНИЙ В СГИ–НЦСС**

В результате молекулярно-генетических и биоинформатических исследований полиморфизма различных участков генома кукурузы разработаны молекулярные маркеры, которые позволяют проводить комплексную оценку линии или гибрида кукурузы: генетической чистоты, гетерозисного потенциала, аутентичности, наличия генов определенных агрономически важных признаков.