

## АГРОНОМІЯ

**УДК:633.282:582.623.2:620.952:575.22:575.8:577.02**

**БАБ'ЯЖ А.І.**

**ЧЕРЕДНИЧОК О.І.**

**ГРИГОРЕНКО Н.О.**

*Інститут біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН*

### **ВИКОРИСТАННЯ RAPD-МАРКЕРІВ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗMU У ВІДІВ РОДУ *MISCANTHUS***

**Метою** роботи є дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму у представників різних видів, що представлені кількома популяціями рослин біоенергетичних культур роду *Miscanthus* колекції Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН України. Пошук та підбір молекулярних маркерів для їх диференціації за умов використання RAPD PCR методик.

**Методи.** У дослідженнях застосовували молекулярно-генетичний метод детекції поліморфізму шляхом аналізу довжин фрагментів ампліфікації, отриманих у результаті RAPD PCR. Розрахунки проводили за допомогою комп’ютерних програм Excel, Statistica 6.0.

**Результати.** При проведенні ампліфікації 7-ма RAPD-праймерами отримано 28 локусів, 23 з яких виявилися поліморфними. Рівень поліморфізму в середньому склав 65 %. Індекс поліморфності локусу коливався в межах від 0,17 до 0,56. У досліджуваних зразках роду *Miscanthus* найбільшу кількість алелей ідентифіковано маркером P822 – шість із розміром від 230 до 613 п.н. Праймер P820 ампліфікував два локуси розміром 311 та 482 п.н., за маркерами P816 і P817 ідентифіковано по три алелі розміром від 219 до 530 п.н. Спектри ампліконів, отримані з використанням зазначених вище праймерів, дають змогу диференціювати представників роду *Miscanthus* різних видів, адже встановлено різницю за кількістю локусів для кожного представника виду. Унікальний алель з частотою 0,35, розмір якого 605 п.н., було отримано з використанням праймера RAPD2.

**Висновки.** За результатами проведених досліджень встановлено доцільність використання праймерів P816 та RAPD2 для диференціювання різних генотипів видів *M. sacchariflorus*, *M. giganteus*, *M. sinensis*. Отримана велика частка поліморфних локусів і, як наслідок, високий рівень поліморфізму підтверджують популяційний склад модельної вибірки.

**Ключові слова:** види роду *Miscanthus*, RAPD PCR, поліморфізм, частоти алелей.

doi: 10.33245/2310-9270-2019-146-1-6-12

**Постановка проблеми.** Україна належить до енергозалежних країн, оскільки щороку використовує близько 90 млн тонн нафтового еквівалента, з яких 39 % змушені імпортувати [1]. Тому для України актуальним є пошук альтернативних джерел енергії з постійним зменшенням частки викопних видів палива. Використання біоенергетичних культур у сільському господарстві України дозволить зменшити залежність від природних джерел енергії (нафти та газу), які імпортують з інших країн.

Бурхливий розвиток біоенергетики у світі спонукав до широкого використання нових культур, які раніше не були об’єктом уваги сільгоспвиробників. Це привело до створення популяцій біоенергетичних культур, походження яких часто не встановлено, а подекуди, взагалі не досліджувалось. Наприклад, одна з найбільш перспективних біоенергетичних культур – міскантус – характеризується широким рівнем різноманіття за морфологією та плоїдністю. Пояснити таку різноманітність наразі неможливо, оскільки джерела походження представників різних видів, а іноді і в межах одного виду, не встановлено [2].

**Аналіз останніх досліджень.** На сьогодні створено понад 100 сортів міскантусу, що відрізняються формою і забарвленням суцвіть – від чисто-білого і рожевого до коричнево-бордового, а також формою, розміром і забарвленням листків – від тонких, вигнутих до міцних вертикальних, мають зелене, жовтувате, рожеве, коричневе забарвлення та поздовжні або поперечні смуги білого, кремового або жовтого кольору [3].

Найбільш цінним за показниками продуктивності представником роду *Miscanthus* нині є вид *Miscanthus giganteus*, що за генетичною природою є триплоїдом, і який поки що не піддається відтворенню традиційними методами селекції. Іншим представником цього роду є *Miscanthus sinensis*, або міскантус китайський, який в іноземній літературі ще називають elephantgrass за здатність рослин досягати висоти до 3 метрів. У результаті його інтенсивного використання отримано величезну кількість популяцій цієї форми. При цьому не встановлено генетичні джерела їх походження, локальність використання та особливості модифікаційних варіацій [4].

Вирощування культури міскантусу спрямовано на отримання продуктивної біомаси, природного полімеру целюлози. Для підвищення результативності селекційної роботи для видів цього роду ефективним є встановлення базових даних про рівні видового поліморфізму, що дозволяє спрогнозувати можливість покращення культури. Тому дослідження у цьому напрямку є актуальними і корисними для селекційної практики [5].

Оскільки рослини роду *Miscanthus* характеризуються підвищеною урожайністю сухої біомаси, посухостійкістю, зимостійкістю та наявністю у складі природних біополімерів, сучасна селекція спрямована на отримання сортів з високими базовими показниками продуктивності. За даними IENICA-CROPS DATABASE, продуктивність *Miscanthus giganteus* на сьогодні складає 11,7–25,3 т/га сухої біомаси в рік, а результати визначення хімічного складу підтверджують вміст целюлози в межах 44 %, лігніну – 17 та геміцелюлози – 24 % [4,6].

Відбір вихідного матеріалу базується на потребах селекційної практики, що орієнтована на максимальну реалізацію потенціалу генетичного різноманіття досліджуваних видів. Сучасна селекція біоенергетичних культур спрямована на підвищення вмісту целюлози, сухої речовини та продуктивності біомаси. Застосування новітніх методів дослідження селекційного матеріалу дозволить оптимізувати селекційний процес шляхом значного скорочення терміну його аналізу.

**Метою роботи** є дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму у представників різних видів, що представлені кількома популяціями рослин біоенергетичних культур роду *Miscanthus*, які входять до колекції ІБКіЦБ НААН України. Пошук та підбір молекулярних маркерів для їх диференціації за умов використання RAPD PCR методик.

**Матеріал і методи дослідження.** Для дослідження та вивчення молекулярно-генетичного поліморфізму на внутрішньовидовому та міжвидовому рівнях у видів роду *Miscanthus* створено модельну популяцію зразків рослин, які входять до колекції Інституту біоенергетичних культур і цукрових буряків НААН. Відбір проводили на вегетуючих рослинах та рослинах культури *in vitro* колекції біоенергетичних культур ІБКіЦБ (табл. 1).

Таблиця 1 – Колекція форм міскантусу, отриманих з різних джерел вирощування

| № зразку | Видова назва                                                  | Назва сорту/гібриду                       | Від кого отримано рослинний матеріал              |
|----------|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| 1        | Міскантус гігантський ( <i>Miscanthus giganteus</i> )         | Зінченко В.О.                             | Квак В.М. (ІБКіЦБ НААН)<br>(Зінченко В.О. – ЖНАУ) |
| 2        | Міскантус гігантський ( <i>Miscanthus giganteus</i> )         | Зінченко В.О. третє вегетативне покоління | Квак В.М. (ІБКіЦБ НААН)<br>(Зінченко В.О. – ЖНАУ) |
| 3        | Міскантус гігантський ( <i>Miscanthus giganteus</i> )         | різновид Австрійський                     | Квак В.М. (ІБКіЦБ НААН)                           |
| 4        | Міскантус гігантський ( <i>Miscanthus giganteus</i> )         | різновид Польський                        | Квак В.М. (ІБКіЦБ НААН)                           |
| 5        | Міскантус китайський ( <i>Miscanthus sinensis</i> )           | Німеччина                                 | Квак В.М., Недяк Т.М.<br>(ІБКіЦБ НААН)            |
| 6        | Міскантус цукроквітковий ( <i>Miscanthus sacchariflorus</i> ) | Снігова королева ІБКіЦБ                   | Квак В.М. Недяк Т.М.<br>(ІБКіЦБ НААН)             |
| 7        | Міскантус цукроквітковий ( <i>Miscanthus sacchariflorus</i> ) | регенерант <i>in vitro</i>                | Недяк Т.М.<br>(ІБКіЦБ НААН)                       |
| 8        | Міскантус гігантський ( <i>Miscanthus giganteus</i> )         | регенерант <i>in vitro</i>                | Недяк Т.М.<br>(ІБКіЦБ НААН)                       |
| 9        | Міскантус китайський ( <i>Miscanthus sinensis</i> )           | регенерант <i>in vitro</i>                | Недяк Т.М.<br>(ІБКіЦБ НААН)                       |

Згідно з літературними даними встановлено, що високим рівнем диференціації характеризуються RAPD-праймери, які дають змогу дослідити суттєву частину геному. Оскільки локуси, що є комплементарними до цих праймерів, локалізовано по всьому геному [7].

Основні структурні характеристики та оптимальну температуру відпалу залучених у дослідженнях праймерів наведено у таблиці 2.

Таблиця 2 – Характеристика використаних RAPD-праймерів

| № п/п | Назва праймера | Нуклеотидна послідовність 5' ..... 3' | К-ть нуклеотидів, шт. | CG-склад, % | Температура відпалу, °C |
|-------|----------------|---------------------------------------|-----------------------|-------------|-------------------------|
| 1     | P815           | ggC ATC ggC C                         | 10                    | 80          | 36                      |
| 2     | P816           | CCC AAG ATCC C                        | 10                    | 60          | 32                      |
| 3     | P817           | CCA CgggAA g                          | 10                    | 70          | 34                      |
| 4     | P818           | TCA gAgCgC C                          | 10                    | 70          | 34                      |
| 5     | P819           | gTCTCgTCg g                           | 10                    | 70          | 34                      |
| 6     | P820           | gTgTAgggC g                           | 10                    | 70          | 34                      |
| 7     | P822           | gCT CTC ACC g                         | 10                    | 70          | 34                      |
| 8     | RAPD1          | CCA gCCgAA C                          | 10                    | 70          | 34                      |
| 9     | RAPD2          | ATggATCCg C                           | 10                    | 60          | 32                      |

Реакцію ампліфікації проводили з використанням набору PCR Mix 2x(NEOGENE). Набір реагентів має у своєму складі суміш, готову для ампліфікації ДНК: інгібовану для «гарячого старту» Тақ ДНК полімеразу, дезоксінуклеозидтрифосфати та хлорид магнію в складі оптимізованої буферної системи для проведення стандартної PCR. Для проведення реакції об'ємом 20 мкл в пробірку додають 10 мкл 2x суміші для ПЛР, 5 мкл матричної ДНК та 5 мкл праймера.

При проведенні ПЛР з HotStartTaq ДНК полімеразою дотримувалися таких температурних умов: 1-й крок – початкова денатурація – 10 хв при 94 °C; 2-й крок – 33 цикли – 0,5 хв денатурація при 93 °C, 0,5 хв відпал при 34 °C; 3-й крок – елонгація – 1 хв при 72 °C.

Після закінчення ПЛР проводили електрофоретичне розділення продуктів у 2 % агарозному гелі з додаванням броміду етидію в 1X ТБЕ при постійній напрузі 2–6 В/см<sup>2</sup> гелю протягом трьох годин [8,9].

Фіксацію електрофоретичного розподілу продуктів ПЛР проводили за допомогою системи документування гелів, що складається з трансілюмінатора, який випромінює світло в ультрафіолетовому діапазоні, відеосистеми з цифровою камерою та комп’ютера для аналізу отриманих зображень [9].

Показник частоти алеля, який відображає його відносну кількість у досліджуваній вибірці, обраховували за формулою:

$$p = \frac{n}{N},$$

де n – кількість зразків з наявністю певного алеля, N – загальна кількість зразків.

Одним із критеріїв, що характеризує ступінь ідентифікованої мінливості у популяції та спроможність маркера визначати різницю між генотипами, є PIC (polymorphism information content) – індекс поліморфності локусу. Цей показник розраховують за формулою:

$$PIC = 1 - \sum_i p_i^2,$$

де  $p_i$  – частота i-того алеля для l локусу.

Розрахунки проводили за допомогою комп’ютерних програм Excel, Statistica 6.0.

**Результати дослідження.** Колекція ІБКІЦБ популяція включає 5 представників *Miscanthus giganteus*, 2 – *Miscanthus sinensis*, 2 представники *Miscanthus sacchariflorus*. Виділення ДНК проводили з кожної рослини в трикратній повторності, при цьому було отримано 27 зразків ДНК для проведення подальшого аналізу.

На основі літературних даних для дослідження молекулярно-генетичного поліморфізму роду *Miscanthus* було залучено 9 RAPD-праймерів, які характеризуються високим рівнем поліморфізму.

У результаті проведення ампліфікації з 7-ма RAPD-праймерами було отримано 28 локусів, 23 з яких виявилися поліморфними. Рівень поліморфізму в середньому становив 65 %. Індекс поліморфності локусу коливався у межах від 0,17 до 0,56 (табл. 3). При ампліфікації з двома

RAPD-праймерами – P815 і RAPD1 – не було отримано жодного амплікона, хоча згідно з літературними даними їх рівень поліморфізму досягав 100 %.

Таблиця 3 – Поліморфізм RAPD-локусів, виявленіх у міскантусу

| № п/п | Назва праймера | Всього локусів | З них поліморфних | % поліморфізму | Індекс поліморфності локусу |
|-------|----------------|----------------|-------------------|----------------|-----------------------------|
| 1     | P816           | 3              | 2                 | 67             | 0,17                        |
| 2     | P817           | 3              | 3                 | 100            | 0,56                        |
| 3     | P818           | 4              | 2                 | 50             | 0,48                        |
| 4     | P819           | 5              | 5                 | 100            | 0,46                        |
| 5     | P820           | 2              | 2                 | 100            | 0,49                        |
| 6     | P822           | 6              | 4                 | 67             | 0,38                        |
| 7     | RAPD2          | 5              | 5                 | 100            | 0,53                        |
|       |                | 28             | 23                | 65*            | 0,34*                       |

Примітка: \*- середнє значення.

На основі досліджень встановлено, що найбільш результативні показники отримано за використання праймерів P816, P822, зважаючи на їх індекс поліморфності локусу, який коливався в межах 0,17–0,38, а рівень поліморфізму праймерів становив 67 %. Слід зазначити, що праймери P817, RAPD2 є недостатньо інформативними, оскільки їх показник індексу поліморфності локусу становив від 0,53 до 0,56, при цьому показник відсотка поліморфізму становив 100 %.

Використання маркерів P816, P818, P822 дозволило встановити 13 локусів, 8 з яких виявилися поліморфними. Відповідно електрофоретичним спектрам ампліконів, отриманих за допомогою праймера P816, виявлено три локуси, два з яких поліморфні, при цьому кількість алелей у представників видів роду *Miscanthus* була різною. Показник індексу поліморфізму локусу вказує на те, що цей праймер дає змогу диференціювати різні генотипи міскантусу. Також результативним для диференціації наявних представників є праймер RAPD2, оскільки він дає змогу ідентифікувати різну кількість алелей для видів роду *Miscanthus*.

Всі амплікони, отримані при ампліфікації RAPD-праймерами, та їх розмір наведено в таблиці 4.

Таблиця 4 – Розмір отриманих ампліконів

| № з/п | RAPD-маркер | Кількість алелів, шт. | Розмір алелів, п. н.         | PIC  |
|-------|-------------|-----------------------|------------------------------|------|
| 1     | P816        | 3                     | 219, 390, 456                | 0,17 |
| 2     | P817        | 3                     | 341, 474, 530                | 0,56 |
| 3     | P818        | 4                     | 202, 387, 475, 560           | 0,48 |
| 4     | P819        | 5                     | 186, 210, 378, 400, 523      | 0,46 |
| 5     | P820        | 2                     | 311, 482                     | 0,49 |
| 6     | P822        | 6                     | 230, 312, 440, 536, 570, 613 | 0,38 |
| 7     | RAPD2       | 5                     | 194, 251, 420, 518, 605      | 0,53 |

У досліджуваних зразках роду *Miscanthus* найбільшу кількість алелей ідентифіковано маркером P822 – шість з розміром від 230 до 613 п.н. Праймер P820 ампліфікував два локуси розміром 311 та 482 п.н., за маркерами P816 і P817 ідентифіковано по три алелі розміром від 219 до 530 п.н.

Для виявлення поліморфізму та диференціації генотипів найбільш цінними в роботі є маркери, які дають змогу ідентифікувати більшу кількість алелей з їх меншою частотою [10].

Праймери P816, P817, P818 і P820 дали змогу отримати невелику кількість алелей, частоти яких коливалися у межах 0,43–1 (рис.1).

Розмір алелей з частотою 0,43 був у праймера P817 – 530 п.н., а у праймера P818 – 387 та 560 п.н.

Більшу кількість алелей було ідентифіковано за допомогою праймерів P819, P822, RAPD2. Частоти отриманих алелей коливались у межах 0,35–1.

Унікальний алель із частотою 0,35, розмір якого 605 п.н., було отримано за використання праймера RAPD2 (рис. 2). Враховуючи літературні дані та отримані результати, можна пропустити, що цей праймер доцільно використовувати для диференціації різних видів роду *Miscanthus*.

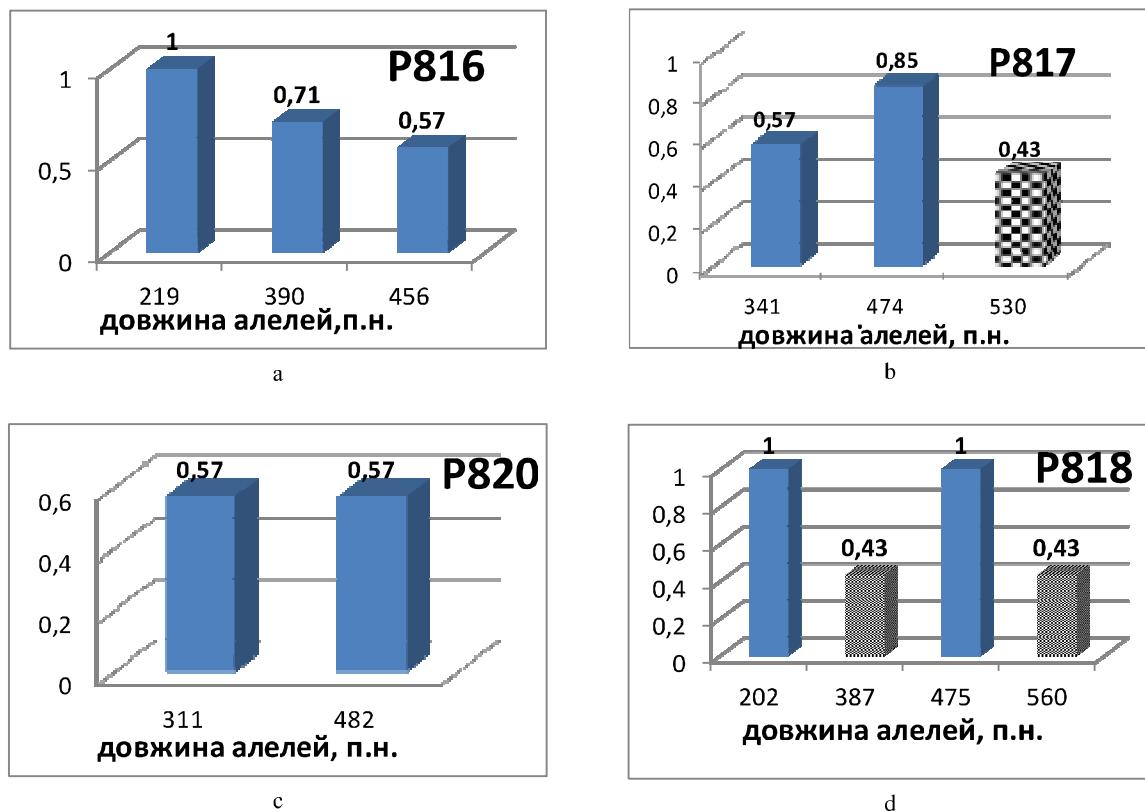


Рис. 1. Частоти алелей, отриманих за використання праймерів  
P816(a), P817(b), P818(d), P820(c).

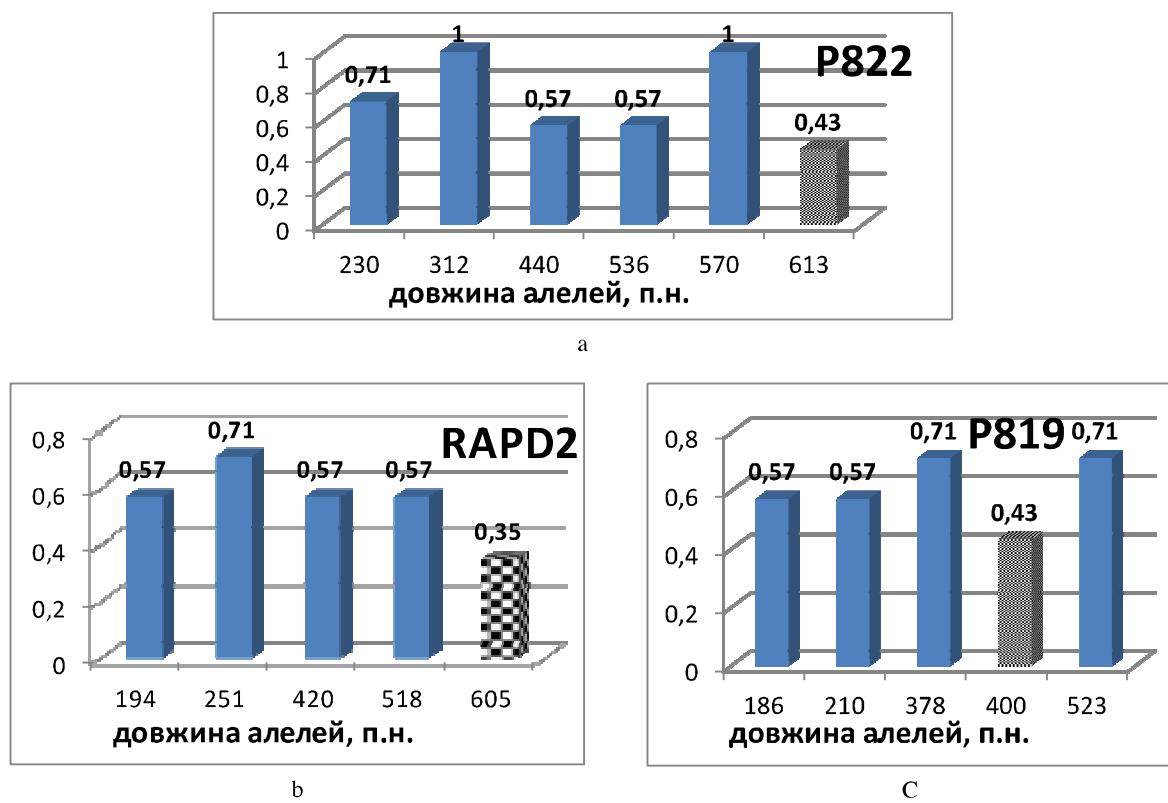


Рис. 2. Частоти алелей, отриманих за використання праймерів  
P822(a), RAPD2(b), P819(c).

**Висновки.** Результатами досліджень встановлено 28 RAPD-локусів, з яких поліморфними є 23. Рівень поліморфізму в середньому становив 65 %. Індекс поліморфності локусу коливався у межах від 0,17 до 0,56. Спектри ампліконів, що отримано з використанням зазначених вище праймерів, дають змогу диференціювати представників роду *Miscanthus* різних видів, за встановленою різницею у кількості локусів для кожного представника виду.

Встановлено доцільність використання праймерів P816 та RAPD2 для диференціювання різних груп генотипів видів *M. sacchariflorus*, *M. giganteus*, *M. sinensis*. Отримана велика частка поліморфних локусів і, як наслідок, високий рівень поліморфізму підтверджують популяційний склад модельної вибірки.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Енергетичний баланс України за 2017 рік. Державна служба статистики України. URL: <http://www.ukrstat.gov.ua/express/expr2018/12/192.pdf>.
2. MISCANTHUS/Місантус. URL: [http://c-13.herbs.on-planet.net/ MISCANTHUS\\_Miskantus.htm](http://c-13.herbs.on-planet.net/ MISCANTHUS_Miskantus.htm).
3. Місантус. URL: <http://www.kazedu.kz/referat/161223>
4. Зінченко О.В. Біохімічні особливості рослин *misanthus giganteus* в умовах Полісся України. Агропромислове виробництво Полісся. 2015. Вип. 8. С.127–129.
5. Місантус. URL: [http://www.tsvetnik.info/lawn/lawn\\_Miskantus.htm](http://www.tsvetnik.info/lawn/lawn_Miskantus.htm).
6. Альтернативні джерела енергії. URL: <http://www.kazedu.kz/referat/161223>
7. Cichorz S., Goska M., Litwiniec A. *Misanthus: Genetic Diversity and Genotype Identification Using ISSR and RAPD Markers*. Mol. Biotechnol. 2014. Vol. 56. P. 911–924.
8. Сиволап Ю.М. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: научно-методическое руководство. Київ: Аграрна наука, 1998. С. 8–70.
9. Визначення молекулярно-генетичного поліморфізму роду Beta L. за допомогою полімеразної ланцюгової реакції : методичні рекомендації / Роїк М.В. та ін. Київ: Поліграф Консалтинг, 2007. 27 с.
10. Саналатій А. В., Солоденко А. Е., Сиволап Ю. М. Идентификация генотипов подсолнечника украинской селекции при помощи SSRP-анализа. Цитология и генетика. 2006. №4. С. 37–43.

#### REFERENCES

1. Energetichnyj balans Ukrai'ny za 2017 rik. Derzhavna sluzhba statystyky Ukrai'ny [Energy balance of Ukraine for 2017.State Statistics Service of Ukraine]. Avialable at: <http://www.ukrstat.gov.ua/express/expr2018/12/192.pdf>.
2. Miskantus. Avialable at: [http://c-13.herbs.on-planet.net/ MISCANTHUS\\_Miskantus.htm](http://c-13.herbs.on-planet.net/ MISCANTHUS_Miskantus.htm).
3. Myskantus. Avialable at: <http://www.kazedu.kz/referat/161223>
4. Zinchenko, O.V. (2015). Biohimichni osoblyvosti Roslyn miscanthus × giganteus v umovah polissja Ukrai'ny [Biochemical features of plants miscanthus × giganteus in the conditions of Polissya Ukraine]. Agropromyslove vyrobnyctvo Polissja [Agro-industrial production of Polissya], Issue 8, pp. 127–129.
5. Myskantus. Avialable at: [http://www.tsvetnik.info/lawn/lawn\\_Miskantus.htm](http://www.tsvetnik.info/lawn/lawn_Miskantus.htm).
6. Al'ternatyvni dzherela energii' [Alternative Energy Sources]. Avialable at: <http://www.kazedu.kz/referat/161223>
7. Cichorz, S., Goska, M., Litwiniec, A. (2014). *Misanthus: Genetic Diversity and Genotype Identification Using ISSR and RAPD Markers*. Mol. Biotechnol. Vol. 56, pp. 911–924.
7. Cichorz, S., Goska, M., Litwiniec, A. (2014). *Misanthus: Genetic Diversity and Genotype Identification Using ISSR and RAPD Markers*. Mol. Biotechnol. Vol. 56, pp. 911–924.
8. Sivolap, Ju.M. (1998). Ispol'zovanie PCR-analiza v genetiko-selekcionnyh issledovanijah [The use of PCR analysis in genetic and breeding studies]. Kyiv, Agrarian science, pp. 8–70.
9. Roik, M.V., Syvolap, Ju.M., Petjuh, G.P. (2007). Vyznachennja molekuljarno-genetychnogo polimorfizmu rodu Beta L. za dopomogoju polimeraznoi' lancjugovoї' reakcii' [Determination of molecular genetic polymorphism of the genus Beta L. by polymerase chain reaction]. Kyiv. Poligraf Konsaltyng, 27 p.
10. Sanalatij, A.V., Solodenko, A.E., Sivolap, Ju.M. (2006). Identifikacija genotipov podsolnechnika ukrainskoy selekcii pri pomoshchi SSRP-analiza [Identification of sunflower genotypes of Ukrainian selection using SSRP analysis]. Citologija i genetika [Cytology and Genetics], no. 4, pp. 37–43.

#### Использование RAPD-маркеров для изучения молекулярно-генетического полиморфизма видов рода *Misanthus*

**Бабяж А.И., Чередничок О.И., Григоренко Н.О.**

**Цель.** Исследовать молекулярно-генетический полиморфизм представителей разных популяций и групп растений биоэнергетических культур рода *Misanthus* коллекции Института биоэнергетических культур и сахарной свеклы НААН Украины. Поиск и подбор молекулярных маркеров для их дифференциации при использовании RAPD PCR методик.

**Методы.** В исследованиях применяли молекулярно-генетический метод детекции полиморфизма путем анализа длины фрагментов амплификаций, полученных в результате RAPD PCR. Обработку данных проводили при помощи компьютерных программ Excel, Statistica 6.0.

**Результаты.** При проведении амплификации 7 RAPD-праймерами получено 28 локусов, 23 из которых оказались полиморфными. Степень полиморфизма в среднем составила 65 %. Индекс полиморфности локуса находится в пределах от 0,17 до 0,56. В исследуемых образцах рода *Misanthus* наибольшее количество аллелей (шесть) иденти-

фицировано с использованием маркера P822, размер полученных фрагментов от 230 до 613 п.н. С участием праймера P820 амплифицировано два локуса размером 311 и 482 п.н. При этом маркеры P816 и P817 позволили выявить по три аллеля размером от 219 до 530 п.н. Спектры ампликонов, которые получены с использованием упомянутых выше праймеров, позволяют дифференцировать представителей рода *Miscanthus* различных видов, так как установлена разница по количеству локусов для каждого представителя вида. Используя маркер RAPD2, был выявлен уникальный аллель с частотой 0,35.

**Выводы.** В результате проведённых исследований установлена целесообразность использования праймеров P816 та RAPD2 для дифференциации разных генотипов видов *M. sacchariflorus*, *M. giganteus*, *M. sinensis*. Полученная значительная часть полиморфных локусов и, как следствие, высокий уровень полиморфизма подтверждают популяционный состав модельной выборки.

**Ключевые слова:** виды рода *Miscanthus*, RAPD PCR, полиморфизм, частоты аллелей.

#### Using RAPD-markers in studying molecular genetic polymorphism in the genus *Miscanthus* species

Bab'jazh A., Cherednychok O., Hryhorenko N.

**Aim.** The study aims to investigate molecular genetic polymorphism in the representatives of different populations and bioenergy crops plant groups of the genus *Miscanthus* of the collection of the Institute of Bioenergy Crops and Sugar Beet of the NAAS of Ukraine as well as to search and select the molecular markers to differentiate them using RAPD PCR methods.

**Methods.** The studies used the molecular genetic method for detecting polymorphism by analyzing the lengths of amplification fragments and the method of electrophoretic distribution of amplification products in agarose gel.

**Results.** In the course of amplification with 7 RAPD primers, 28 loci were obtained, of which 23 were polymorphic. The polymorphism degree averaged 65 %. The index of polymorphism locus ranged from 0.17 to 0.56. There were identified six alleles by marker P822 -with sizes ranging from 230 to 613 bp. P820 primer amplified two loci of 311 and 482 bp, three alleles sized from 219 to 530 bp were identified by P816 and P817 markers. The spectra of the amplicons obtained using the above-mentioned primers make it possible to differentiate representatives of the *Miscanthus* genus of different species, since the difference in the number of loci for each species representative is established. A unique allele with the frequency of 0.35 and the size of 605 bp was obtained using the RAPD2 primer.

**Conclusions.** According to the results it was found that the use of primers P816 and RAPD2 allowed to separate genotypes of *M. sacchariflorus*, *M. giganteus*, *M. sinensis*. A large proportion of polymorphic loci confirm the population composition of the model sample which resulted in high level of polymorphism.

**Key words:** genus *Miscanthus*, RAPD primers, PCR, polymorphism, allele frequencies.

Надійшла 08.04.2019 р.