

**МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ В ТАКСОНОМИИ,
СИСТЕМАТИКЕ, МЕТАБОЛОМ-НАПРАВЛЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ БОТАНИЧЕСКИХ САДОВ**

Ботанические сады составляют основу системы сохранения биоразнообразия растений *ex situ*. Собранные в садах генофонды поддерживаются в коллекциях генетических ресурсов. Главная предпосылка изучения генетического фонда растительного мира – поиск и привлечение новых видов и форм, а также глубокое исследование уже имеющегося материала для использования в будущем в хозяйственной деятельности, как правило, посредством вовлечения в процесс направленной селекции.

Коллекции генетических ресурсов растений ботанических садов – составная часть государственной системы сохранения и рационального использования биоразнообразия, установления наиболее уникальных генотипов. В соответствии со своим предназначением они подразделяются на следующие категории: национальные базовые коллекции, активные рабочие коллекции, дублетные коллекции, генетические коллекции, стержневые коллекции, гербарные коллекции, коллекции меристем, коллекции ДНК и РНК [1, 2]. В коллекционных фондах ЦБС НАН Беларуси объединены более 30 самостоятельных коллекций, которые зарегистрированы в Министерстве природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь, их состав уточняется и анализируется с помощью современных методов исследования, которые проводит отдел биохимии и биотехнологии растений ЦБС НАН Беларуси. Отдельное направление деятельности отдела – создание, поддержание и пополнение коллекции асептических культур хозяйственно полезных растений ЦБС НАН Беларуси, коллекции трансгенных и модифицированных растений, ДНК коллекции. Весь введенный в коллекцию материал уникален. Такой клеточный материал ценен как для фундаментальных исследований, в которых ткани и клетки *in vitro* являются модельной системой для изучения клеточных процессов, так и для решения прикладных задач в области расширенного воспроизводства оздоровленного и омоложенного материала, создания новых сортов, производства лекарственных препаратов и др. К основным задачам следует отнести массовое промышленное производство востребованных хозяйственно ценных растений для целей озеленения, наработку суспензионной культуры с повышенным содержанием физиологически активных соединений, создание новых сортов растений, сохранение биоразнообразия растений. Для ботанических

садов весьма актуальны цели сохранения редких таксонов, их морф, сортов, *ex situ*; консервации редких в природе видов, документирования образцов. На всех этапах сохранения, начиная с гербаризирования, воспроизведения, сохранения, реинтродукции и др., необходимо осуществлять строгое документирование и сертификацию образцов. Активное использование сертификации образцов/коллекций на основе молекулярных маркеров – неотъемлемый этап сохранения и поддержания коллекций с необходимой точностью [3].

Развитие молекулярных методов исследований позволило создать новые тест-системы, позволившие анализировать генетический полиморфизм на уровне продуктов генов (белковый или биохимический полиморфизм) и на уровне генетического материала клетки (полиморфизм ДНК) [4, 5]. Определение генетической конституции отдельных особей и последующую оценку генетического разнообразия в пределах той или иной группы можно вести двумя путями: либо косвенно, по проявлению фенотипических или биохимических признаков, либо напрямую, определяя различия на генетическом уровне. Во втором случае широко применяются молекулярные маркеры.

Молекулярные маркеры представляют собой последовательность аминокислот в белковой молекуле или нуклеотидов в молекуле ДНК и характеризуются определенной структурой и наследуемостью [6–8]. Недавние достижения молекулярной биологии обеспечили революционные технологии для решения научных задач таксономии, эволюции, экологии и сохранения биологического разнообразия, в том числе растительных ресурсов на основании широкого использования молекулярных маркеров [9].

В каждом конкретном случае необходим выбор метода, наиболее подходящего для решения поставленных задач. Так, например, при всех достоинствах изоферментов, у них есть и ряд недостатков – ограниченное количество маркеров и средняя разрешающая способность в выявлении изменчивости. В то же время преимуществом группы ДНК-методов является непосредственный анализ структуры ДНК. Кроме того, ДНК-маркеры характеризуются рядом методических преимуществ: возможность определения в любых тканях, возможность определения на любых стадиях развития, длительность хранения образцов ДНК, возможность использования гербарного материала, ископаемых остатков и т. п., отсутствие ограничений в числе маркеров на образец, наличие маркеров для белок-кодирующих последовательностей, наличие маркеров для некодирующих последовательностей (интронные, межгенные, регуляторные области и т. п.), наличие маркеров для повторяющихся последовательностей [10].

При выборе маркерной системы, оптимально отвечающей на поставленные вопросы при оценке генетического разнообразия, необходимо учитывать, что идеальные маркеры должны обладать рядом важных характеристик, поэтому классификация ДНК-маркеров осуществляется на основании различных критериев [11]:

- 1) по уровню изменчивости (мономорфность, гипервариабельность) маркер должен обладать высокополиморфной природой для оценки генетического разнообразия;

2) по характеру наследования (доминантный, кодоминантный), что позволяет определять гомозиготное и гетерозиготное состояние диплоидного организма;

3) по механизму передачи (обоеполое наследование, наследование только по материнской или отцовской линии);

4) по локализации в геноме (ядерная ДНК, хлоропластная ДНК и др.), кроме того, маркер должен быть равномерно и часто распределен по геному;

5) должен обладать селективной нейтральностью: последовательности ДНК любого организма нейтральны по отношению к условиям окружающей среды и применяемым методам;

6) надежность и доступность при получении (легко, быстро и дешево) и оценке;

7) должен обладать высокой воспроизводимостью; позволять легкий обмен данными между лабораториями.

Для оценки генетического разнообразия популяций, коллекций и т. п. проводят генотипирование или генетическую паспортизацию особей или форм, составляющих популяцию, коллекцию или иную группу. Это означает, что для каждой особи или формы проверяют наличие или характер проявления у нее множества молекулярно-генетических маркеров. В конечном счете количество анализируемых локусов должно быть настолько велико, чтобы по ним можно было отличить любые особи или формы в коллекции (популяции).

В данной работе представлены исследования отдела биохимии и биотехнологии растений, осуществляемые с 2002 г. по генеральному документированию коллекций ЦБС НАН Беларуси и их молекулярной сертификации. Объектами разработок были ботанические коллекции видов и сортов таких культур, как голубика высокая (*Vaccinium corymbosum* L.), амарант (*Amaranthus* spp.), курильский чай кустарниковый (*Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz, син. *Potentilla fruticosa* L., или *Dasiphora*). Работа с каждой культурой проводится с целью разработки набора уникальных генетических маркеров, позволяющих с наименьшими временными и финансовыми затратами проводить точную молекулярно-генетическую идентификацию и сертификацию генотипов хозяйственно ценных растений. Результат такой работы – генетический паспорт каждого отдельного генотипа (особи, сорта, формы, вида). Такие паспорта позволяют не только отличать образцы друг от друга, но и определять степень генетического сходства между ними, выявлять наиболее уникальные генотипы [5, 12], выяснять пути эволюции и распространения диких видов [13, 14], выбирать исходный материал для селекции, следить за генетической чистотой и однородностью сортов, патентовать сорта и защищать авторские права селекционеров [15].

Голубика высокая (*Vaccinium corymbosum* L.) Культура голубики высокой является коммерчески важной и успешно возделывается в странах Северной Америки и Европы [16]. Существует большое разнообразие сортов голубики высокой (около 200), в основном селекции США, а также Германии, Польши и др. Работа по интродукции культуры в Беларуси начата в ЦБС

НАН Беларуси в 1980-х гг. [17]. В ЦБС поддерживается коллекция из 49 сортов голубики, в том числе в коллекции *in vitro* – 12 сортов.

Для видов *Vaccinium* предпринят ряд филогенетических исследований на основе использования молекулярно-генетических маркеров, в том числе для распознавания сортов культур. На основе RAPD-маркеров было проведено дифференцирование сортов и диких форм *Vaccinium* [18–22], а также опубликована карта сцепления диких диплоидных видов рода [22, 23]. Для голубики высокой были проведены исследования по идентификации сортов с помощью произвольных праймеров [21], разработаны микросателлитные (SSR) маркеры на основе EST-локусов [24] и проведена SSR-сертификация сортов [25].

Для исследований межсортового полиморфизма, выявления генетического сходства/отдаленности генотипов сортов с целью их дифференцирования нами был выбран комплексный подход совместного использования двух методик, основанных на RAPD (**R**andom **a**mplified **p**olymorphic **D**NА) и ISSR (**I**nter **s**imple **s**equenсe **r**epeats) ПЦР. Это продиктовано очевидными преимуществами данных методов, к тому же совместное использование этих маркерных систем позволяет значительно расширить зоны покрытия, получить генетические маркеры в двух независимых срезах. Цель данного исследования состояла в разработке и стандартизации комплексного RAPD + ISSR генотипирования сортов голубики высокой, внесенных в Государственный реестр Республики Беларусь, создании их уникальных RAPD + ISSR сертификатов.

В связи с высокой актуальностью культуры, возникновением нового направления – промышленного голубиководства, а также высокой востребованностью и эффективностью фармакологических субстанций из растительного сырья голубики [26], стоит задача строгой сертификации сортности коллекционного и посадочного материала и коллекций *in vitro* на основе современных молекулярно-биологических и генетических методов, разработки методологии проведения анализа и его стандартизации. Создание генетического паспорта сорта – стратегическая необходимость при оценке качества растительного материала: подтверждения сортности, стабильности генотипа при микроклональном размножении и т. д. Для обнаружения генетической варибельности и с целью выявления взаимосвязей между семью сертифицированными сортами голубики высокой был проведен скрининг ряда праймеров. Три RAPD- и два ISSR-праймера были отобраны после первичного скрининга как выявляющие наибольший полиморфизм между исследованными генотипами голубики высокой, они и были использованы в настоящей работе. Все использованные праймеры позволили получить четкие воспроизводимые ампликоны, набор которых для каждого исследуемого сорта характеризовался уникальностью, т. е. праймеры обнаруживали полиморфизм между сортами, и таким образом позволили их дифференцировать. На рис. 15.1 представлено разделение ампликонов синтезированных в результате ПЦР геномной ДНК сортов *V. corymbosum* с произвольным праймером ОРА-08, проведенное на приборе Bioanalyzer 2100.

Всего было сгенерировано 46 дискретных RAPD-маркеров (в среднем 15 маркеров на праймер) и 40 ISSR-маркеров (20 маркеров на праймер). Число амплифицированных фрагментов составляло от 13 (праймер OPA-08) до 19 (OPA-09). ISSR-праймерами было сгенерировано по 20 ампликонов. RAPD- и ISSR-маркеры обладали размерами в областях 270–2500 bp и 225–1775 bp соответственно. Праймеры OPA-09, OPA-20 и UBC-818 обнаружили 100%-ный полиморфизм между проанализированными сортами и позволили различить все генотипы. Все использованные RAPD- и ISSR-праймеры позволили разработать сорто-специфические (уникальные) маркеры. Праймеры OPA-20 и UBC-824 были наиболее эффективными для получения данных, которые могут послужить основой для создания SCAR-маркеров и маркирования генов биосинтеза вторичных метаболитов культуры.

Коэффициенты подобия Nei & Li были рассчитаны для семи генотипов *V. corymbosum* на основе ISSR- и RAPD-анализов, как по отдельности, так и совместно (RAPD + ISSR) [27]. Дистанционные матрицы на основе рассчитанных RAPD- и ISSR-маркеров для сортов голубики (данные не представлены) были использованы для построения дендрограмм по методу UPGMA (данные не представлены).

Поскольку дендрограммы, основанные на данных RAPD- и ISSR-анализа, показали довольно схожую кластеризацию генотипов голубики высокой ($r = 0,908$), данные были объединены и получена сводная RAPD + ISSR матрица (данные не представлены). Используя UPGMA-алгоритм была построена консенсусная дендрограмма (RAPD + ISSR), представленная на рис. 15.2. В соответствии с RAPD + ISSR дендрограммой была уточнена и детализирована

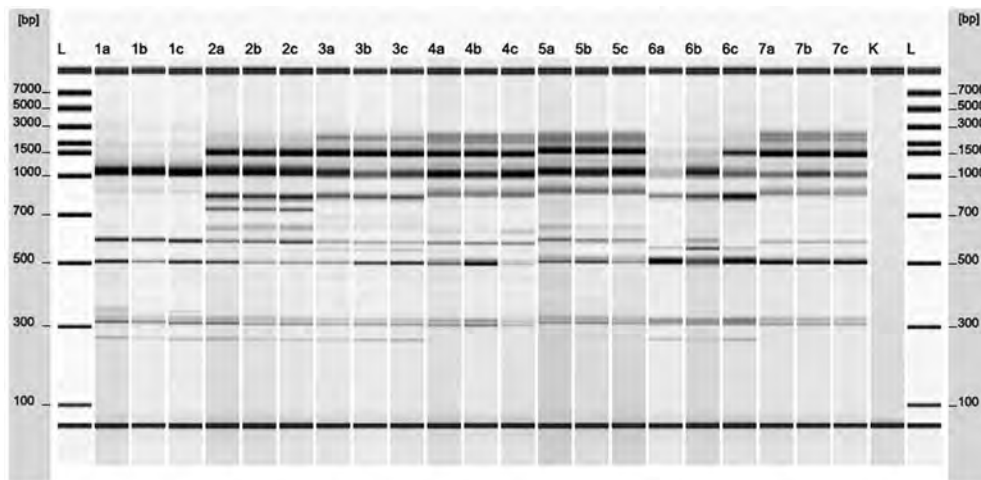


Рис. 15.1. Разделение ампликонов геномной ДНК сортов *V. corymbosum* с произвольным праймером OPA-08 на Bioanalyzer 2100. Сорта: 1 – Bluecrop, 2 – Elisabeth, 3 – Earlyblue, 4 – Northland, 5 – Duke, 6 – Patriot, 7 – Bluetta; a, b, c – повторности; K – контроль; L – стандарт длин фрагментов (bp)

на кластеризация генотипов, полученная на основе RAPD- и ISSR-данных в отдельности. В целом распределение ветвей в RAPD + ISSR дендрограмме повторяет таковое в ISSR-дендрограмме и сходно с дендрограммой на основе RAPD-маркеров. Были получены бóльшие величины поддержки ветвей по сравнению с данными RAPD- или ISSR-анализов для сортов Duke/Northland.

Поскольку произвольные последовательности и простые повторы, использованные в качестве зондов при анализе, сканируют различные участки генома, мы считаем, что объединение данных двух анализов детализирует RAPD- и ISSR-результаты. Поэтому данные кластеризации сортов Bluecrop, Patriot, Earlyblue и Elisabeth в RAPD + ISSR-дендрограмме принимаем как уточненные (рис. 15.2).

На основании полученных данных RAPD, ISSR и RAPD + ISSR анализов и проведенного кластерного анализа на их основе были получены данные о генетическом родстве исследованных генотипов голубики высокой. Можно предположить, что сорта Northland и Duke, а также Bluetta и Elisabeth имеют сходные родительские формы, использованные при селекции. Отдельно отстоящие сорта Bluecrop и Patriot, наиболее родственные между собой, а также Earlyblue, вероятно, имеют в своих родословных общую предковую форму. Величины Bootstrap анализа, показывающие относительную поддержку кластеров, колебались от 32 до 100%. Требуется включение еще нескольких праймеров для повышения разрешающей способности анализа.

Генотипические паспорта, полученные с помощью RAPD- и ISSR-праймеров для сортов голубики высокой, представленные в табл. 15.1, будут служить

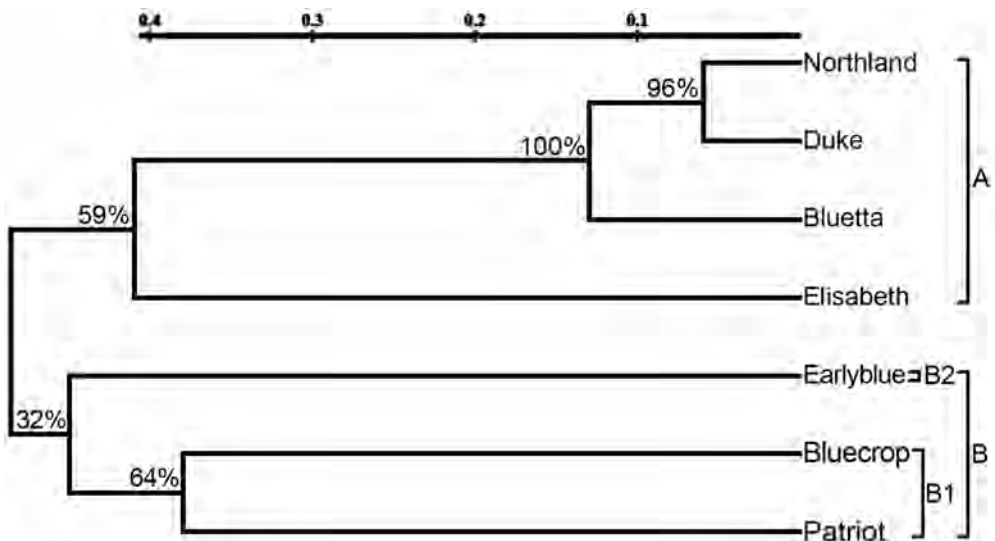


Рис. 15.2. Консенсусная дендрограмма, сгенерированная с использованием UPGMA-алгоритма и генетических дистанций Nei & Li, на основе 46 RAPD-маркеров и 40 ISSR-маркеров. Горизонтальная шкала позволяет определить дистанцию между сортами. Числа под ветвями отражают величины поддержки, основанные на 2000 реплик Bootstrap-анализа

основой для проведения строгой сертификации сортности посадочного материала голубики высокой и их поддержания в *in vitro* коллекции. Разработанные уникальные спектры для каждого сорта (паспорта) можно использовать как эталоны для проведения идентификации образцов и подтверждения сортности культуры.

Таблица 15.1. Мультилокусные генетические паспорта сортов голубики высокорослой

Праймер	Ампликоны
<i>Corn Bluecrop</i> (рис. 15.3, см. цв. вклейку)	
OPA-08	OPA08 ₃₁₀ , OPA08 ₃₂₅ , OPA08 ₅₀₅ , OPA08 ₅₉₀ , OPA08 ₁₀₇₅
OPA-09	OPA09 ₃₂₅ , OPA09 ₄₃₅ , OPA09 ₄₇₅ , OPA09 ₆₅₀ , OPA09 ₆₈₅ , OPA09 ₈₂₅ , OPA09 ₁₀₆₀
OPA-20	OPA20 ₅₁₀ , OPA20 ₅₄₀ , OPA20 ₅₅₅ , OPA20 ₆₇₅ , OPA20 ₇₆₀ , OPA20 ₉₈₅ , OPA20 ₁₁₂₀ , OPA20 ₁₄₁₅
UBC-818	UBC818 ₂₂₅ , UBC818 ₃₀₀ , UBC818 ₃₇₅ , UBC818 ₄₆₅ , UBC818 ₅₃₀ , UBC818 ₆₁₅ , UBC818 ₆₆₀ , UBC818 ₁₂₁₀ , UBC818 ₁₇₇₅
UBC-824	UBC824 ₅₂₅ , UBC824 ₅₄₅ , UBC824 ₆₃₀ , UBC824 ₆₄₅ , UBC824 ₆₇₀ , UBC824 ₉₉₀ , UBC824 ₁₆₅₅
<i>Corn Bluetta</i>	
OPA-08	OPA08 ₃₁₀ , OPA08 ₃₂₅ , OPA08 ₅₀₅ , OPA08 ₅₉₀ , OPA08 ₈₇₅ , OPA08 ₁₀₇₅ , OPA08 ₁₅₁₅ , OPA08 ₂₂₀₅ , OPA08 ₂₄₈₀
OPA-09	OPA09 ₃₁₀ , OPA09 ₃₂₅ , OPA09 ₅₀₀ , OPA09 ₅₃₀ , OPA09 ₅₆₅ , OPA09 ₅₉₀ , OPA09 ₆₁₅ , OPA09 ₆₅₀ , OPA09 ₆₈₅ , OPA09 ₇₄₅ , OPA09 ₈₆₀
OPA-20	OPA20 ₃₀₀ , OPA20 ₅₁₀ , OPA20 ₅₅₅ , OPA20 ₆₇₅ , OPA20 ₇₆₀ , OPA20 ₈₂₀ , OPA20 ₉₈₅ , OPA20 ₁₁₂₀ , OPA20 ₁₂₅₀
UBC-818	UBC818 ₃₀₀ , UBC818 ₃₇₅ , UBC818 ₄₆₅ , UBC818 ₅₅₀ , UBC818 ₅₇₀ , UBC818 ₇₃₀ , UBC818 ₈₈₀ , UBC818 ₉₆₀ , UBC818 ₁₂₁₀ , UBC818 ₁₄₁₀
UBC-824	UBC824 ₄₄₀ , UBC824 ₅₂₅ , UBC824 ₆₇₀ , UBC824 ₈₁₅ , UBC824 ₉₉₀ , UBC824 ₁₃₅₀ , UBC824 ₁₇₇₅
<i>Corn Duke</i>	
OPA-08	OPA08 ₃₁₀ , OPA08 ₃₂₅ , OPA08 ₅₀₅ , OPA08 ₅₉₀ , OPA08 ₈₇₅ , OPA08 ₁₀₇₅ , OPA08 ₁₅₁₅ , OPA08 ₂₂₀₅ , OPA08 ₂₄₈₀
OPA-09	OPA09 ₃₂₅ , OPA09 ₅₀₀ , OPA09 ₅₃₀ , OPA09 ₅₆₅ , OPA09 ₅₉₀ , OPA09 ₆₅₀ , OPA09 ₆₈₅ , OPA09 ₇₄₅ , OPA09 ₈₆₀
OPA-20	OPA20 ₅₁₀ , OPA20 ₅₅₅ , OPA20 ₈₂₀ , OPA20 ₉₈₅ , OPA20 ₁₁₂₀ , OPA20 ₂₀₁₅
UBC-818	UBC818 ₃₀₀ , UBC818 ₃₇₅ , UBC818 ₄₆₅ , UBC818 ₅₀₅ , UBC818 ₅₅₀ , UBC818 ₅₇₀ , UBC818 ₇₃₀ , UBC818 ₈₈₀ , UBC818 ₉₆₀ , UBC818 ₁₂₁₀ , UBC818 ₁₄₁₀
UBC-824	UBC824 ₄₄₀ , UBC824 ₅₂₅ , UBC824 ₆₇₀ , UBC824 ₈₁₅ , UBC824 ₉₉₀ , UBC824 ₁₃₅₀ , UBC824 ₁₆₅₅
<i>Corn Earlyblue</i>	
OPA-08	OPA08 ₃₁₀ , OPA08 ₃₂₅ , OPA08 ₅₀₅ , OPA08 ₅₉₀ , OPA08 ₈₄₅ , OPA08 ₁₀₇₅ , OPA08 ₁₅₁₅ , OPA08 ₂₃₂₀
OPA-09	OPA09 ₅₀₀ , OPA09 ₅₃₀ , OPA09 ₅₆₅ , OPA09 ₅₉₀ , OPA09 ₆₀₅ , OPA09 ₆₅₀ , OPA09 ₆₈₅ , OPA09 ₈₂₅ , OPA09 ₈₆₀ , OPA09 ₁₄₇₅
OPA-20	OPA20 ₅₄₀ , OPA20 ₅₅₅ , OPA20 ₆₇₅ , OPA20 ₇₀₀ , OPA20 ₈₂₀ , OPA20 ₁₁₂₀ , OPA20 ₁₄₁₅
UBC-818	UBC818 ₃₀₀ , UBC818 ₃₇₅ , UBC818 ₄₂₀ , UBC818 ₄₆₅ , UBC818 ₅₃₀ , UBC818 ₆₁₅ , UBC818 ₆₆₀ , UBC818 ₈₈₀ , UBC818 ₁₀₀₅ , UBC818 ₁₂₈₀
UBC-824	UBC824 ₄₄₀ , UBC824 ₅₂₅ , UBC824 ₅₆₅ , UBC824 ₆₃₀ , UBC824 ₆₈₅ , UBC824 ₉₂₀ , UBC824 ₁₀₃₀ , UBC824 ₁₂₂₀ , UBC824 ₁₆₅₅

Праймер	Ампликоны
<i>Сорт Elisabeth</i>	
OPA-08	OPA08 ₃₁₀ , OPA08 ₃₂₅ , OPA08 ₅₀₅ , OPA08 ₅₉₀ , OPA08₆₄₅ , OPA08₇₄₅ , OPA08 ₈₄₅ , OPA08 ₁₀₇₅ , OPA08 ₁₅₁₅
OPA-09	OPA09 ₄₃₅ , OPA09 ₅₀₀ , OPA09 ₅₃₀ , OPA09 ₅₉₀ , OPA09 ₆₅₀ , OPA09 ₆₈₅ , OPA09 ₈₂₅ , OPA09 ₈₆₀ , OPA09₈₉₅ , OPA09₉₂₅
OPA-20	OPA20 ₅₅₅ , OPA20 ₆₇₅ , OPA20 ₈₂₀ , OPA20₉₂₀ , OPA20 ₉₈₅ , OPA20 ₁₁₂₀ , OPA20 ₁₄₁₅ , OPA20 ₂₀₁₅
UBC-818	UBC818 ₃₀₀ , UBC818 ₃₇₅ , UBC818 ₄₆₅ , UBC818₅₉₅ , UBC818 ₆₁₅ , UBC818 ₆₆₀ , UBC818 ₉₆₀
UBC-824	UBC824 ₄₄₀ , UBC824 ₅₂₅ , UBC824 ₆₄₅ , UBC824₆₆₀ , UBC824 ₉₁₅ , UBC824 ₉₉₀ , UBC824 ₁₃₅₀ , UBC824₁₄₈₅
<i>Сорт Northland</i>	
OPA-08	OPA08 ₃₁₀ , OPA08 ₃₂₅ , OPA08 ₅₀₅ , OPA08 ₅₉₀ , OPA08 ₈₇₅ , OPA08 ₁₀₇₅ , OPA08 ₁₅₁₅ , OPA08 ₂₂₀₅ , OPA08 ₂₄₈₀
OPA-09	OPA09 ₃₂₅ , OPA09 ₅₀₀ , OPA09 ₅₃₀ , OPA09 ₅₆₅ , OPA09 ₅₉₀ , OPA09 ₆₀₅ , OPA09 ₆₅₀ , OPA09 ₆₈₅ , OPA09 ₈₆₀
OPA-20	OPA20 ₅₁₀ , OPA20 ₅₅₅ , OPA20 ₈₂₀ , OPA20 ₉₈₅ , OPA20 ₁₁₂₀
UBC-818	UBC818 ₃₀₀ , UBC818 ₃₇₅ , UBC818 ₄₆₅ , UBC818 ₅₅₀ , UBC818 ₅₇₀ , UBC818 ₆₁₅ , UBC818 ₆₆₀ , UBC818 ₇₃₀ , UBC818 ₈₈₀ , UBC818 ₉₆₀ , UBC818 ₁₂₁₀ , UBC818 ₁₄₁₀
UBC-824	UBC824 ₄₄₀ , UBC824 ₅₂₅ , UBC824 ₆₇₀ , UBC824 ₈₁₅ , UBC824 ₉₉₀ , UBC824 ₁₃₅₀ , UBC824 ₁₆₅₅
<i>Сорт Patriot</i>	
OPA-08	OPA08 ₅₀₅ , OPA08 ₈₄₅ , OPA08 ₁₀₇₅
OPA-09	OPA09 ₃₂₅ , OPA09 ₄₇₅ , OPA09 ₅₀₀ , OPA09 ₅₃₀ , OPA09 ₅₉₀ , OPA09 ₆₀₅ , OPA09 ₆₅₀ , OPA09 ₆₈₅ , OPA09 ₇₄₅ , OPA09 ₈₂₅ , OPA09 ₁₀₆₀
OPA-20	OPA20 ₅₄₀ , OPA20 ₅₅₅ , OPA20 ₈₂₀ , OPA20 ₁₁₂₀ , OPA20 ₂₀₁₅
UBC-818	UBC818 ₃₀₀ , UBC818 ₄₆₅ , UBC818 ₅₃₀ , UBC818 ₆₁₅ , UBC818 ₆₆₀ , UBC818 ₁₂₁₀ , UBC818 ₁₄₁₀
UBC-824	UBC824₄₀₅ , UBC824 ₄₄₀ , UBC824 ₅₂₅ , UBC824 ₅₄₅ , UBC824 ₆₃₀ , UBC824 ₉₁₅ , UBC824 ₁₆₅₅

Амарант, или Щиріца (*Amaránthus*) – распространенный род преимущественно однолетних травянистых растений, относится к семейству Амарантовых, широко используется в ряде стран как овощная (*A. gangeticus*, *A. mangostanus* и др. виды), зерновая (*A. caudatus*, *A. paniculatus*) и декоративная (*A. caudatus*, *A. hypochondriacus* и др.) культура.

Актуальность культуры *Amaranthus* [28] и наличие сортов и видов в коллекции ЦБС НАН Беларуси, а также проведение работ по получению субстанций из растительного сырья амаранта ставит задачу строгой сертификации коллекционного материала на основе современных молекулярно-биологических и генетических методов с целью сохранения, дальнейшей селекции, обмена генетическим материалом с другими ботаническими садами и держателями коллекций [29, 30].

В средней полосе в основном культивируются четыре вида амаранта: *A. paniculatus*, *A. hypochondriacus*, *A. caudatus* и *A. tricolor*. На сегодняшний день

предприняты попытки использования молекулярных маркеров для изучения взаимоотношений различных видов амаранта, генетического разнообразия видов амаранта и их филогенетического анализа, эволюционного происхождения культуры: изоферментный анализ, RAPD, AFLP, SSR, SCAR, ITS-регион, ISSR-генотипирование [31–36]. Однако не существует данных по изучению генетической дифференциации сортов амаранта. Следовательно, предстояло решить задачу по идентификации генотипов амаранта на внутривидовом уровне с использованием RAPD- и ISSR-техник. Для исследований внутривидового полиморфизма, определения генетического сходства/отдаленности генотипов сортов с целью их дифференцирования нами был использован комплексный подход использования двух методик, основанных на RAPD и ISSR ПЦР.

Использованные праймеры OPA-20, OPA-16, OPA-18 и OPB-03 позволили получить четкие воспроизводимые ампликоны, набор которых для каждого исследуемого сорта характеризовался уникальностью, т. е. обнаружили полиморфизм между сортами и таким образом позволили дифференцировать все генотипы. Праймеры OPE-14 и OPD-07 также генерировали четкие воспроизводимые ампликоны и позволили различить практически все генотипы. Однако праймер OPE-14 не выявил отличий между генотипами сортов Прелюдия (*A. caudatus*), Чародей (*A. hybridus*) и Зеленая сосулька (*A. caudatus*). OPD-07 не позволил различить сорта Прелюдия (*A. caudatus*), Чародей (*A. hybridus*) и Зеленая сосулька (*A. caudatus*), а также генерировал идентичные спектры для сортов Рубин (*A. paniculatus*) и Ультра (1) (*A. paniculatus*). Исходя из данных о видовой принадлежности следует сделать вывод, что праймеры OPE-14 и OPD-07 не могут быть использованы для дифференциации генотипов на внутривидовом уровне для видов *A. caudatus*, *A. hybridus* и *A. paniculatus*, однако могут быть использованы для генетической паспортизации сортов видов *A. hypochondriacus* и *A. tricolor*.

Для проведения ISSR-анализа сортов *Amaranthus* spp. были использованы четыре микросателлитных праймера, выбранных на основании существующих литературных данных. Все исследованные праймеры, кроме UBC-866 были использованы для дальнейшего генотипирования сортов *Amaranthus* spp. Праймер UBC866, хотя и выявлял воспроизводимые полосы, все же не позволил дифференцировать исследованные генотипы, так как не выявлял закономерного внутри- и межвидового полиморфизма. Праймеры UBC-846, ISSCR-4 и UBC-857 обнаруживали полиморфизм между всеми исследованными генотипами, т. е. позволили получить четкие воспроизводимые ампликоны, набор которых для каждого исследуемого сорта характеризовался уникальностью, и таким образом позволили дифференцировать все сорта.

Разделение продуктов ПЦР тотальной ДНК сортов амаранта с произвольным праймером UBC-846 приведено на рис. 15.4.

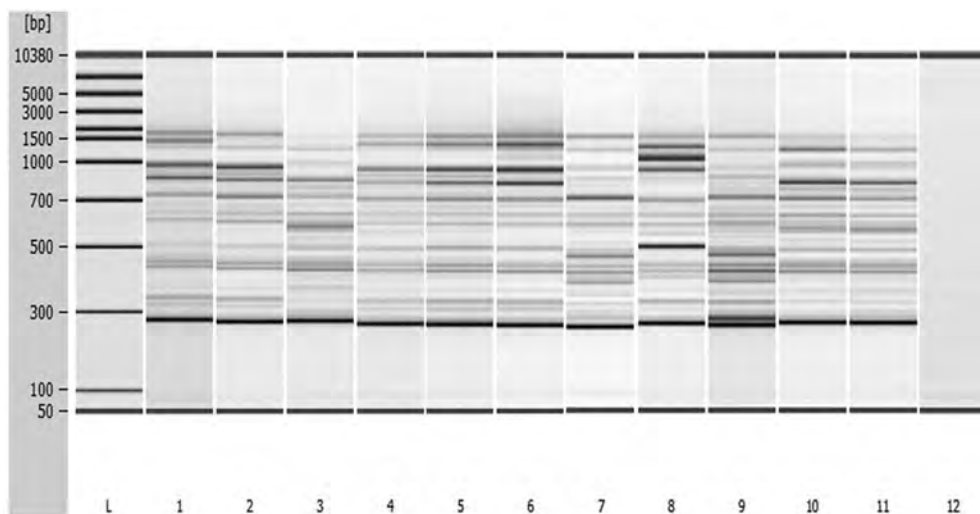


Рис. 15.4. Разделение ампликонов геномной ДНК *Amaranthus* spp. с микросателлитным праймером UBC 846 на приборе 2100 Bioanalyzer (Agilent). Сорта: 1 – Кизлярец, 2 – Крепыш, 3 – Зеленая сосулька, 4 – Сэм, 5 – Ультра (1), 6 – Валентина, 7 – Жемчужина, 8 – Рубин, 9 – Чародей, 10 – Прелюдия, 11 – Ультра (2); 12 – отрицательный контроль; L – стандарт длины фрагментов

Проведенный генетический анализ 10 сортов *Amaranthus* на основе 6 RAPD и 3 ISSR-маркеров позволил дифференцировать все исследованные генотипы, разработать и составить уникальные профили для каждого из них (табл. 15.2), рассчитать генетические дистанции родства/отдаленности, обнаружить уникальные для ряда сортов маркеры.

Таблица 15.2. Мультилокусные генетические паспорта сортов амаранта

Праймер	Ампликоны
<i>Сорт Крепыш</i> (рис. 15.5, см. цв. вклейку)	
OPA-16	OPA16 ₄₈₅ ^o , OPA16 ₅₂₅ ^o , OPA16 ₇₉₅ ^o , OPA16 ₉₂₀ ^o , OPA16 ₁₃₄₀ ^o , OPA16 ₁₈₀₀
OPA-18	OPA18 ₃₈₀ ^o , OPA18 ₄₃₀ ^o , OPA18 ₅₃₅ ^o , OPA18 ₆₂₅ ^o , OPA18 ₆₈₀ ^o , OPA18 ₇₄₅ ^o , OPA18 ₈₈₀ ^o , OPA18 ₉₈₅ ^o , OPA18 ₁₁₈₀ ^o , OPA18 ₁₃₅₀ ^o , OPA18 ₁₉₀₅ ^o , OPA18 ₂₄₀₅ ^o , OPA18 ₂₈₄₅
OPA-20	OPA20 ₅₅₀ ^o , OPA20 ₆₈₀ ^o , OPA20 ₉₂₀ ^o , OPA20 ₁₁₅₅ ^o , OPA20 ₁₅₁₀
OPB-03	OPB03 ₂₇₀ ^o , OPB03 ₃₉₅ ^o , OPB03 ₄₀₅ ^o , OPB03 ₄₂₅ ^o , OPB03 ₅₁₀ ^o , OPB03 ₁₄₄₀
OPD-07	OPD07 ₄₇₅ ^o , OPD07 ₉₇₅ ^o , OPD07 ₁₆₃₀
OPE-14	OPE14 ₅₇₅ ^o , OPE14 ₇₅₀ ^o , OPE14 ₉₀₅ ^o , OPE14 ₉₈₅ ^o , OPE14 ₁₁₅₀
ISSCR-04	ISSCR4 ₂₅₅ ^o , ISSCR4 ₂₇₅ ^o , ISSCR4 ₁₂₅₀ ^o , ISSCR4 ₁₃₄₀
UBC-846	UBC846 ₂₇₀ ^o , UBC846 ₃₁₅ ^o , UBC846 ₃₃₅ ^o , UBC846 ₄₃₀ ^o , UBC846 ₄₄₅ ^o , UBC846 ₄₉₅ ^o , UBC846 ₆₀₅ ^o , UBC846 ₆₄₀ ^o , UBC846 ₆₇₅ ^o , UBC846 ₇₂₀ ^o , UBC846 ₈₄₅ ^o , UBC846 ₉₀₀ ^o , UBC846 ₉₅₀ ^o , UBC846 ₁₃₁₅ ^o , UBC846 ₁₆₄₅
UBC-857	UBC857 ₂₃₀ ^o , UBC857 ₂₄₅ ^o , UBC857 ₂₇₀ ^o , UBC857 ₃₃₀ ^o , UBC857 ₃₇₅ ^o , UBC857 ₄₀₅ ^o , UBC857 ₄₃₅ ^o , UBC857 ₄₈₀ ^o , UBC857 ₅₆₅ ^o , UBC857 ₆₁₀ ^o , UBC857 ₆₇₀ ^o , UBC857 ₈₇₀ ^o , UBC857 ₉₅₀

Праймер	Ампликоны							
<i>Сорт Зеленая сосулька</i>								
OPA-16	OPA16 ₂₆₀	OPA16 ₄₈₅	OPA16 ₅₂₅	OPA16 ₆₉₀	OPA16 ₇₉₅	OPA16 ₈₉₀	OPA16 ₁₂₅₀	
OPA-18	OPA18 ₃₅₀	OPA18 ₄₇₀	OPA18 ₆₂₅	OPA18 ₆₉₀	OPA18 ₉₈₅	OPA18 ₁₁₈₀	OPA18 ₁₄₃₀	OPA18 ₂₈₄₅
OPA-20	OPA20 ₂₆₀	OPA20 ₃₇₅	OPA20 ₄₀₆	OPA20 ₄₇₀	OPA20 ₅₀₀	OPA20 ₆₈₀	OPA20 ₇₈₅	OPA20 ₉₂₀
	OPA20 ₁₁₅₅	OPA20 ₁₃₃₅	OPA20 ₁₅₁₀					
OPB-03	OPB03 ₄₂₅	OPB03 ₈₂₀	OPB03 ₁₄₄₀					
OPD-07	OPD07 ₄₇₅	OPD07 ₉₀₅	OPD07 ₉₇₅	OPD07 ₁₆₃₀				
OPE-14	OPE14 ₄₂₅	OPE14 ₄₆₅	OPE14 ₅₇₅	OPE14 ₇₅₀	OPE14 ₈₂₀	OPE14 ₉₀₅	OPE14 ₉₈₀	
ISSCR-04	ISSCR4 ₂₅₅	ISSCR4 ₂₇₅	ISSCR4 ₇₃₀					
UBC-846	UBC846 ₂₇₀	UBC846 ₃₄₀	UBC846 ₃₇₀	UBC846 ₄₀₅	UBC846 ₄₃₀	UBC846 ₄₄₅	UBC846 ₄₉₅	UBC846 ₄₉₅
	UBC846 ₅₃₅	UBC846 ₅₈₀	UBC846 ₆₄₀	UBC846 ₆₇₅	UBC846 ₇₃₀	UBC846 ₇₉₅	UBC846 ₈₄₅	UBC846 ₈₄₅
	UBC846 ₉₈₅	UBC846 ₁₂₇₀						
UBC-857	UBC857 ₂₃₀	UBC857 ₂₄₅	UBC857 ₂₇₀	UBC857 ₄₃₅	UBC857 ₄₉₀	UBC857 ₅₆₅	UBC857 ₆₁₀	UBC857 ₆₁₀
	UBC857 ₆₇₀	UBC857 ₇₀₀	UBC857 ₈₇₀					
<i>Сорт Ультра</i>								
OPA-16	OPA16 ₂₆₀	OPA16 ₄₈₅	OPA16 ₅₂₅	OPA16 ₅₆₀	OPA16 ₇₉₅	OPA16 ₉₂₀	OPA16 ₁₈₀₀	
OPA-18	OPA18 ₂₉₀	OPA18 ₃₈₀	OPA18 ₅₃₅	OPA18 ₅₇₀	OPA18 ₆₂₅	OPA18 ₆₈₀	OPA18 ₇₄₅	OPA18 ₈₈₀
	OPA18 ₉₈₅	OPA18 ₁₁₈₀	OPA18 ₁₃₅₀	OPA18 ₁₉₀₅	OPA18 ₂₄₀₅	OPA18 ₂₈₄₅		
OPA-20	OPA20 ₄₇₀	OPA20 ₅₅₀	OPA20 ₆₈₀	OPA20 ₉₂₀	OPA20 ₁₁₅₅			
OPB-03	OPB03 ₂₇₀	OPB03 ₄₀₅	OPB03 ₄₂₅	OPB03 ₅₁₀	OPB03 ₉₀₅	OPB03 ₁₀₉₀	OPB03 ₁₄₄₀	
OPD-07	OPD07 ₄₇₅	OPD07 ₉₇₅	OPD07 ₁₆₃₀					
OPE-14	OPE14 ₃₇₅	OPE14 ₇₁₀	OPE14 ₇₅₀	OPE14 ₈₁₅	OPE14 ₉₀₅	OPE14 ₉₈₅	OPE14 ₁₁₅₀	OPE14 ₁₇₇₀
ISSCR-04	ISSCR4 ₂₅₅	ISSCR4 ₂₇₅	ISSCR4 ₁₁₈₅	ISSCR4 ₁₃₀₅				
UBC-846	UBC846 ₂₇₀	UBC846 ₃₁₅	UBC846 ₃₃₅	UBC846 ₄₀₅	UBC846 ₄₃₀	UBC846 ₄₄₅	UBC846 ₄₉₅	UBC846 ₄₉₅
	UBC846 ₆₀₅	UBC846 ₆₄₀	UBC846 ₆₇₅	UBC846 ₇₂₀	UBC846 ₈₄₅	UBC846 ₉₀₀	UBC846 ₉₅₀	UBC846 ₉₅₀
	UBC846 ₁₃₇₀	UBC846 ₁₆₄₅						
UBC-857	UBC857 ₂₃₀	UBC857 ₂₄₅	UBC857 ₂₇₀	UBC857 ₃₃₀	UBC857 ₃₇₅	UBC857 ₄₀₅	UBC857 ₄₃₅	UBC857 ₄₃₅
	UBC857 ₄₈₀	UBC857 ₄₉₀	UBC857 ₅₆₅	UBC857 ₆₁₀	UBC857 ₆₇₀	UBC857 ₈₇₀	UBC857 ₉₅₀	UBC857 ₉₅₀
<i>Сорт Валентина</i>								
OPA-16	OPA16 ₂₆₀	OPA16 ₄₈₅	OPA16 ₅₂₅	OPA16 ₇₉₅	OPA16 ₉₂₀	OPA16 ₁₃₄₀	OPA16 ₁₈₀₀	
OPA-18	OPA18 ₂₃₀	OPA18 ₂₉₀	OPA18 ₃₈₀	OPA18 ₄₃₀	OPA18 ₅₃₅	OPA18 ₅₇₀	OPA18 ₆₂₅	OPA18 ₆₈₀
	OPA18 ₇₄₅	OPA18 ₈₈₀	OPA18 ₉₈₅	OPA18 ₁₁₈₀	OPA18 ₁₃₅₀	OPA18 ₁₉₀₅	OPA18 ₂₄₀₅	OPA18 ₂₈₄₅
OPA-20	OPA20 ₅₅₀	OPA20 ₆₈₀	OPA20 ₇₈₅	OPA20 ₉₂₀	OPA20 ₁₁₅₅	OPA20 ₁₅₁₀	OPA20 ₁₇₆₅	OPA20 ₂₆₂₅
OPB-03	OPB03 ₂₇₀	OPB03 ₄₂₅	OPB03 ₄₆₅	OPB03 ₅₁₀	OPB03 ₇₂₅	OPB03 ₁₄₄₀		
OPD-07	OPD07 ₄₇₅	OPD07 ₉₇₅	OPD07 ₁₆₃₀					
OPE-14	OPE14 ₃₇₅	OPE14 ₇₁₀	OPE14 ₇₅₀	OPE14 ₈₁₅	OPE14 ₉₀₅	OPE14 ₉₈₅	OPE14 ₁₁₅₀	OPE14 ₁₇₇₀
ISSCR-04	ISSCR4 ₂₅₅	ISSCR4 ₂₇₅	ISSCR4 ₄₆₀	ISSCR4 ₈₀₅	ISSCR4 ₈₇₀	ISSCR4 ₁₁₈₅	ISSCR4 ₁₃₀₅	
UBC-846	UBC846 ₂₇₀	UBC846 ₃₁₅	UBC846 ₃₃₅	UBC846 ₄₃₀	UBC846 ₄₄₅	UBC846 ₄₉₅	UBC846 ₆₀₅	UBC846 ₆₀₅
	UBC846 ₆₄₀	UBC846 ₆₇₅	UBC846 ₇₂₀	UBC846 ₈₄₅	UBC846 ₉₀₀	UBC846 ₁₀₇₅	UBC846 ₁₃₇₀	UBC846 ₁₃₇₀
	UBC846 ₁₆₄₅							
UBC-857	UBC857 ₂₃₀	UBC857 ₂₄₅	UBC857 ₂₇₀	UBC857 ₃₃₀	UBC857 ₃₇₅	UBC857 ₄₀₅	UBC857 ₄₃₅	UBC857 ₄₃₅
	UBC857 ₄₈₀	UBC857 ₄₉₀	UBC857 ₅₆₅	UBC857 ₆₁₀	UBC857 ₆₇₀	UBC857 ₈₇₀	UBC857 ₉₅₀	UBC857 ₉₅₀

Данные по RAPD- и ISSR-генотипированию сортов привели к сходным результатам по выявленной степени родства изучаемых сортов: кластеризация в консенсусных, RAPD и ISSR дендрограммах сохраняется, однако есть небольшие отличия в субкластеризации некоторых сортов (данные не приведены). На основании 91 RAPD и 69 ISSR маркеров была сгенерирована консенсусная RAPD + ISSR дендрограмма, представленная на рис. 15.6. Комплексный RAPD + ISSR анализ данных позволил осуществить более тонкий анализ различий генотипов исследуемых образцов, уточнить генетические взаимосвязи исследуемых сортов *Amaranthus* spp.

Так, сорта Кизлярец, Крепыш и Сэм, относящиеся к виду *A. hypochondriacus* формируют отчетливый кластер, обозначенный на рис. 15.6 как A₁. Тем не менее, сорт Сэм отстоит от сортов Кизлярец и Крепыш, которые образуют единый субкластер. Полученные данные хорошо согласуются с тем, что эти сорта созданы в разных селекционных центрах (сорта Кизлярец и Крепыш – ВНИИССОК (Россия), сорт Сэм – ХНАУ им. В. В. Докучаева).

Сорт Валентина (ВНИИССОК, Россия), относящийся к виду *A. tricolor*, располагается так же, как и сорт Ультра (1) (*A. hybridus*), в кластере, обозначенном на рис. 15.6 как A₂, формирующем с кластером A₁ (*A. hypochondriacus*) метакластер А. Таким образом, использованная система RAPD + ISSR маркирования позволила различить сорта видов *A. hypochondriacus* и *A. tricolor* и получить свидетельства в пользу их родства.

Вид *A. hybridus* – сложная в таксономическом отношении группа, представители которой являются результатом процесса межвидового скрещивания

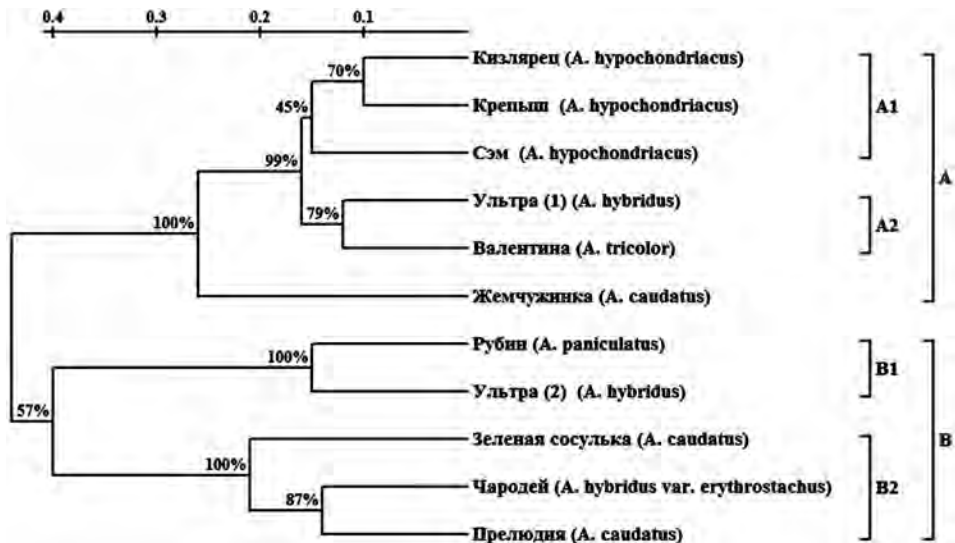


Рис. 15.6. Консенсусная RAPD + ISSR дендрограмма, отражающая степень генетического сходства/различия между сортами *Amaranthus* spp., полученная на основании 160 маркеров, сгенерированных праймерами OPA20, OPA16, OPA18, OPE-14, OPD-07 и OPB-03, UBC-846, ISSCR-4 и UBC 857. Значения Bootstrap указаны над соответствующей ветвью (%)

различных видов рода *Amaranthus* (*A. paniculatus*, *A. caudatus*, *A. hypochondriacus*, *A. hybridus* var. *erythrostachus*, *A. cruentus* и др.) [32, 34], поэтому таксономия этой группы нуждается в серьезной ревизии. В связи с этим можно предположить, что генотип сорта Ультра (1) – результат межвидов гибридизации *A. hypochondriacus* и, возможно, *A. tricolor*.

Сорта Рубин (*A. paniculatus*, ЦБС НАН Беларуси) и Ультра (2) (*A. hybridus*) образуют кластер В₁ в метакластере В (рис. 15.6), что дает основание предположить принадлежность сорта Ультра (2) к разновидности *paniculatus* вида *A. hybridus*.

Кластер В₂ формируют сорта Зеленая сосулька и Прелюдия, относящиеся к виду *A. caudatus*, а также сорт Чародей, который по предоставленной селекционером информации относиться к виду *A. hybridus* var. *erythrostachus*. Расположение сорта Чародей в окружении представителей вида *A. caudatus* и высокие значения *Bootstrap* в данном кластере позволяют предположить, что форма *erythrostachus* вида *A. hybridus* может состоять в родстве с видом *A. caudatus*.

Расположение сорта селекции ЦБС Жемчужинка (*A. caudatus*) отдельной ветвью в метакластере А (объединяющем генотипы *A. hypochondriacus* и *A. tricolor*), а не в В₂, требует проведения дополнительного генотипирования эталонной линией сорта и родительских форм, чтобы исключить вероятность того, что исследованный образец сорта Жемчужинка не является результатом перепыления.

Род *Potentilla*, к которому до сих пор ряд систематиков относят **курильский чай кустарниковый**, является довольно сложным в систематическом отношении, что связано с его широким распространением, нередкими случаями апомиксиса, полиплоидизации и отдаленной гибридизации [38–40]. Род разделен на несколько секций, внутри которых таксономические отношения запутаны. Использование морфологических признаков для систематики этого рода затруднено из-за их большой изменчивости, конвергенции и проблемы выбора морфологических признаков для сравнения [40, 41]. Поэтому вопросу применения молекулярно-генетических маркеров при изучении систематики, филогении и исторической биогеографии рода *Potentilla* посвящен ряд исследований в различных европейских странах [38–41], которые помогли нам при выборе методов исследования и маркирующих праймеров, так как до настоящего времени нет данных по генетической паспортизации культуры *Pentaphylloides fruticosa* (L.) O. Schwarz.

Изначально для работы было отобрано 8 RAPD и 6 ISSR праймеров, но после предварительной проверки праймеры ОРА-11 и ОРХ-08 были исключены из дальнейшей работы, так как либо вовсе не давали ПЦР-продуктов, либо получаемые маркеры были малочисленными и нечеткими. Таким образом, для паспортизации коллекции были использованы 6 RAPD и 6 ISSR праймеров. На основе полученных данных были построены дендрограммы, отражающие результаты кластерного анализа UPGMA (рис. 15.7).

Совместное использование двух методов маркирования (RAPD и ISSR) позволило провести достаточно тщательное и разностороннее изучение генетического разнообразия коллекции курильского чая ЦБС НАН Беларуси. Данные, полученные при паспортизации форм Фонарик и Румянец, сортов Gold Star,

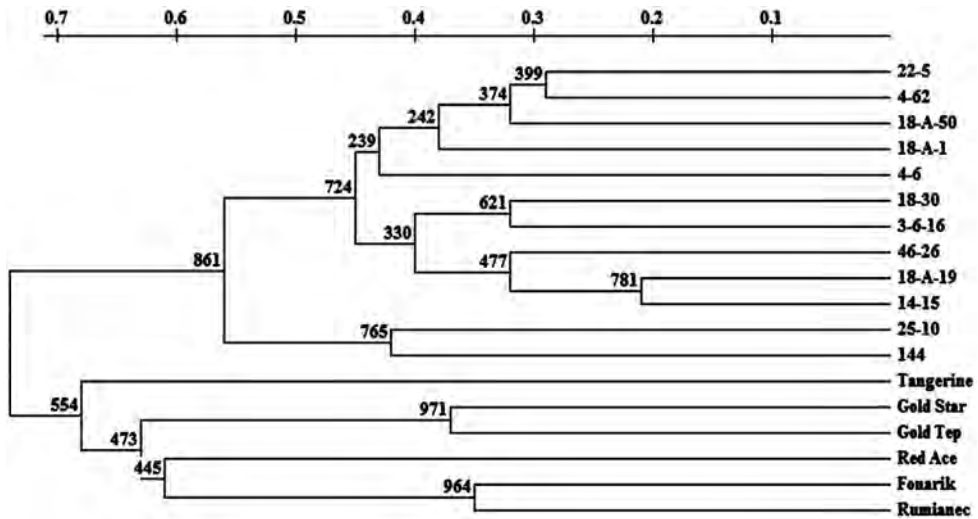


Рис. 15.7. RAPD + ISSR дендрограмма на основе UPGMA-анализа, отражающая степень генетического сходства между формами и сортами *P. fruticosa*. Горизонтальная шкала – относительное генетическое расстояние между формами. В точках разветвления указаны результаты Bootstrap-анализа

Gold Terrich и Red Ace двумя методами, не имели достоверно высокого коэффициента корреляции (0,58 при уровне значимости менее 0,05), при этом был отмечен одинаковый характер кластеризации всех пяти образцов.

Наблюдаемые различия между данными двух методов, полученными при паспортизации всей коллекции, объясняются разным распределением RAPD- и ISSR-ампликонов по геному: если RAPD-ампликоны распределены относительно равномерно, то ISSR-ампликоны ассоциированы с участками микросателлитной ДНК, характер изменчивости которой имеет свои особенности. Генотипирование всей коллекции RAPD- и ISSR-маркерами привело к схожим данным. Полученные генетические паспорта для форм курильского чая могут использоваться для идентификации и патентования особо ценных форм (это особенно важно для заявленных в ЦБС НАН Беларуси сортов Румянец и Фонарик) и для поддержания всей коллекции (табл. 15.3).

Таблица 15.3. Мультилокусные генетические паспорта сортов курильского чая селекции ЦБС НАН Беларуси

Праймер	Ампликоны
<i>Сорт Фонарик (рис. 15.8, см. цв. вклейку)</i>	
OPA-05	OPA05 ₃₆₄ , OPA05 ₅₅₃ , OPA05 ₆₆₉ , OPA05 ₉₅₄ , OPA05 ₁₀₉₆ , OPA05 ₁₃₅₅
OPC-02	OPC02 ₇₂₀ , OPC02 ₁₁₀₀
OPD-08	OPD08 ₄₂₅ , OPD08 ₅₅₅ , OPD08 ₆₂₅ , OPD08 ₁₀₄₀ , OPD08 ₁₅₆₂
OPG-08	OPG08 ₅₄₀ , OPG08 ₇₀₀ , OPG08 ₈₄₀
OPX-08	OPX08 ₅₄₁ , OPX08 ₇₁₄ , OPX08 ₉₅₈

Праймер	Ампликоны
<i>Сорт Румянец</i>	
ОРА-05	ОРА05 ₈₈₀ , ОРА05 ₁₃₀₀ , ОРА05 ₁₄₀₀ , ОРА05 ₁₈₀₀ , ОРА05 ₂₅₀₀
ОРС-02	—
ОПД-08	ОПД08 ₃₄₀ , ОПД08 ₁₀₃₀ , ОПД08 ₁₃₄₀ , ОПД08 ₁₅₆₀
ОПГ-08	ОПГ08 ₃₀₀ , ОПГ08 ₃₆₀ , ОПГ08 ₄₇₀ , ОПГ08 ₈₄₀ , ОПГ08 ₉₉₀ , ОПГ08 ₁₆₀₀
ОРХ-08	—
<i>Сорт Снежинка (36–16)</i>	
ОРА-05	ОРА05 ₅₅₃ , ОРА05 ₆₁₃ , ОРА05 ₇₄₀ , ОРА05 ₈₃₀ , ОРА05 ₉₅₄ , ОРА05 ₁₀₉₆ , ОРА05 ₁₃₅₅
ОРС-02	ОРС02 ₇₂₀ , ОРС02 ₁₇₇₅ , ОРС02 ₁₉₇₀
ОПД-08	ОПД08 ₅₀₅ , ОПД08 ₉₁₅ , ОПД08 ₁₀₃₀ , ОПД08 ₁₅₆₂
ОПГ-08	ОПГ08 ₃₆₀ , ОПГ08 ₅₄₀ , ОПГ08 ₆₇₀ , ОПГ08 ₉₃₄
ОРХ-08	ОРХ08 ₆₂₀ , ОРХ08 ₇₁₄ , ОРХ08 ₉₅₈

На основании полученных данных сделаны детальные заключения о генетических различиях исследованных форм, которые являются весьма ценными для дальнейшего процесса селекции. Проведенные исследования показывают принципиальную возможность совместного применения RAPD- и ISSR-маркеров для точного и достоверного генотипирования сортов курильского чая. Проведенное RAPD- и ISSR-маркирование предоставило серьезные дополнительные аргументы в пользу выделения форм Фонарик и Румянец в самостоятельные сорта.

Таким образом, для оценки генетического разнообразия ботанических коллекции ЦБС НАН Беларуси предложен комплексный подход основанный на ПЦР с использованием RAPD- и ISSR-праймеров для проведения сертификации генотипов культур (сортов, форм, гибридов, видов).

Оформлены генотипические сертификаты для исследованных культур (голубика высокая, амарант, курильский чай кустарниковый), поддерживающихся в коллекциях ЦБС НАН Беларуси. Эталонные спектры позволяют дифференцировать генотипы культур (сорта, формы, виды).

Разработаны маркеры (видо- и сортоспецифические) для создания уникальных генотипических профилей исследованных хозяйственно ценных культур. Разработанные сортоспецифические маркеры совместно с детальной характеристикой ряда биохимических параметров предоставляют перспективу маркирования ценных признаков различных сортов хозяйственно ценных культур, в том числе генов биосинтеза вторичных метаболитов (пектинов, флавоноидов, антоцианов, сквалена и др.) и полимеров (белков, липидов, крахмала и др.).

Проведено пополнение полученными молекулярно-генетическими данными комплексной интерактивной информационной системы для управления данными о разнообразии растений – информационно-поисковой системы Hortus Botanicus Centralis – Info (№ ГР 20053449 от 14.11.2005 г.), в том числе официального сайта ЦБС НАН Беларуси.