

А. Н. Юхимук, науч. сотр.
(ГНУ ЦБС НАНБ, г. Минск);

Д. В. Гордей, канд. биол. наук, ст. преп.
(БГТУ, г. Минск)

**РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЙ
ИДЕНТИФИКАЦИИ ВНУТРИВИДОВЫХ ТАКСОНОВ
ГОЛУБИКИ УЗКОЛИСТНОЙ
(*VACCINIUM ANGUSTIFOLIUM* AIT.)**

Проблема точной идентификации сортов и форм голубики узколистной (*Vaccinium angustifolium* Ait.) является крайне актуальной для обеспечения эффективного промышленного производства ягод культуры, организации, проведения и контроля селекционной работы, а также четкого и однозначного решения вопросов защиты авторских прав. Традиционные методы оценки на основе анализа морфологических признаков растений часто оказываются недостаточно надежными из-за высокой пластичности фенотипа под влиянием внешних условий и агротехники. Это делает традиционную оценку отличимости, однородности и стабильности сортов и форм вида трудоемкой и зачастую недостаточно точной. Решить данную проблему можно путем внедрения методов оценки полиморфизма на генетическом уровне.

Целью исследования стала разработка системы молекулярно-генетической идентификации растений голубики узколистной. Исследование охватывало 11 генотипов, представляющих сорта белорусской селекции «Мотего», «Янка» и «Половчанка», а также перспективные и уникальные формы вида. Идентификация проводилась методом анализа восьми микросателлитных локусов (CA344F, CA421F, NA1040, VCC_I2, GVC-C179a, GVC-C428, KAN262, Pr031818819a.), обладающих высокой разрешающей способностью и отобранных по критериям воспроизводимости и информационной значимости. ДНК выделялась методом СТАВ-экстракции, после чего проводилась ПЦР и фрагментный анализ.

Количество выявленных аллелей варьировало от 6 в локусах VCC_I2 и GVC-C428 до 17 в локусе CA421F. Всего выявлено 72 аллеля, из которых 71 являлся полиморфным. Только один аллель (246 п.н.) в локусе KAN262 был мономорфным и встречался у всех проанализированных генотипов (таблица).

В локусах CA421F, Pr031818819a, NA1040, KAN262, VCC_I2 и CA344F всего выявлено 27 уникальных аллеля. Наибольшее их количество присутствует в локусе CA421F – 8 шт., минимальное – в локусах Pr031818819a и VCC_I2 – по 1 шт.

Исследованные локусы характеризовались достаточно высоким уровнем полиморфизма – в среднем 98,6%. Минимальным полиморфизмом характеризуется локус KAN262 – 90,0%. Изменчивость всех остальных амплифицированных зон достигает максимальных 100,0%.

Для каждого локуса также был рассчитан PIC, значения которого находились в диапазоне от 0,66 для локуса KAN262 до 0,88 для локуса CA421F, что свидетельствует о высокой разрешающей способности локусов.

Таблица – Совокупная характеристика восьми микросателлитных локусов на основе анализа данных 11 генотипов голубики узколистной

Локус	bp	N(A)	N(A _p)	N(A _u)	P, %	N(A _G)			PIC
						max	avr	min	
CA421F	164–216	17	17	11	100	4	3,6	3	0,88
Pr031818819a	315–335	8	8	1	100	4	3,6	1	0,82
NA1040	182–212	10	10	3	100	3	2,7	2	0,83
KAN262	233–278	10	9	6	90	4	2,1	1	0,66
VCC I2	211–223	6	6	1	100	4	3,2	2	0,77
GVC-C428	251–266	6	6	–	100	4	2,6	2	0,78
CA344F	153–174	8	8	3	100	4	2,0	1	0,75
GVC-C179a	206–224	7	7	2	100	3	2,3	1	0,80
Всего:	–	72	71	27	98,6	–	–	–	–

Примечание. bp – размерный диапазон аллелей локуса в п. н.; N (A) – количество аллелей на локус; N (A_p) – количество полиморфных аллелей на локус; P – уровень полиморфизма; N (A_u) – количество уникальных аллелей; N (A_G) – количество аллелей на генотип (max – максимальное, avr – среднее, min – минимальное); PIC (polymorphism information content) – информационный индекс полиморфизма.

Совокупное аллельное состояние восьми микросателлитных локусов для каждого таксона, включенного в исследование, характеризовалось уникальностью, что позволяет использовать эти данные для тестирования на отличимость, однородность и стабильность всех растений *V. angustifolium*.

Данные об аллельном состоянии микросателлитных локусов являются вариантом индивидуальной характеристики конкретного растения голубики узколистной и их можно использовать для создания уникального генетического паспорта сорта или формы вида. Последний документ может послужить основанием для выдачи патента, обеспечивающего защиту авторских прав селекционера.

Опираясь на результаты анализа микросателлитных локусов, теоретически можно оценивать эффективность скрещивания гибридов уже на ранних этапах их онтогенеза путем анализа комбинативной изменчивости родительских генотипов.