

А.Ю. ШЕВЧУК, Н.Э. КОЖУХОВА, Ю.М. СИВОЛАП

Южный биотехнологический центр в растениеводстве УААН,

Овидиопольская дор. 3, Одесса, 65036, Украина

E-mail: genom2005@ukr.net

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФОРМ СОРГО, ВОЗДЕЛЫВАЕМЫХ В УКРАИНЕ



Проведен ПЦР-анализ межродового и межвидового полиморфизма сорго, сориза и их ближайших сородичей (кукуруза, рис). Уровень полиморфизма в пределах выборки составил 100 %, межвидовой полиморфизм (виды сорго и сориза) – 96,2 %, что свидетельствует о широкой изменчивости исследуемых образцов. Кластеризация генотипов произошла согласно их видовой принадлежности.

© А.Ю. ШЕВЧУК, Н.Э. КОЖУХОВА, Ю.М. СИВОЛАП, 2009

Введение. Повышение продуктивности сельскохозяйственных растений и улучшение качества синтезируемой продукции является одной из важнейших задач генетико-селекционных исследований. Наряду с созданием новых с высоким потенциалом продуктивности видов растений, таких как тритикале [1], проводится работа по изменению качественных признаков внутри вида. Это селекция на такие показатели зерна пшеницы, как hard-soft [2], Wx [3], компонентный состав запасных белков глиадинов и глютеинов [4] и др. В селекции крупяных культур значительным событием является создание рисовидной формы сорго (сориза), обладающего ценными питательными свойствами.

Сорго (*Sorghum bicolor* M.) – одна из пяти наиболее важных злаковых культур, культивируется в 85 странах мира. Выращивают сорго в полусухих зонах благодаря толерантности к неблагоприятным условиям окружающей среды (высокая засухоустойчивость, жаростойкость, солевыносливость, неприхотливость к почвам) [5]. Сорго характеризуется большим эколого-географическим и сортовым разнообразием, множеством промежуточных форм, что существенно затрудняет классификацию. Именно таксономия основана на двух подходах: ботаническом (оценка основных морфологических признаков сорго) и практическом (описание хозяйственных признаков). При классификации рода *Sorghum Moench* [6] наиболее часто используют второй подход. В последнее время в ряде центров Украины и Молдовы создана новая культура – сорго рисозерное, кратко – сориз (*Sorghum orysooidum*), которая имеет высокую пищевую ценность и используется для получения высококачественных крупяных изделий. Зерну сориза свойственна хорошая стекловидность, высокая твердость эндосперма и в связи с этим высокая экструзивная способность, хорошие вкусовые качества, устойчивость к болезням [7].

Происхождение и классификация сориза в настоящий момент недостаточно изучены и понятны, поскольку идентификация осуществляется на основе описания морфологических или агрономических признаков. В литературе можно найти предположение о том, что сориз представляет собой гибридную форму от скрещивания хлебного сорго с дикими рисовидными формами [7]. Выращивание крупяных куль-

Таблица 1
Список генотипов, исследованных в работе

Вид	Линия
Зерновое сорго (<i>S. bicolor</i>)	НК-180
	К 35-Е5
	НК-5418
	НК-2517
	НК-1486
Сахарное сорго (<i>S. saccharatum</i>)	Одесский 1800
	1969 Буджак
	Одесский 2111
	Одесский 2113
Веничное сорго (<i>S. technicus</i>)	2179 Буджак
	2645 Буджак
	2806 Буджак
Суданка (<i>S. sydanense</i>)	2778 Буджак
	2810 Буджак
	Суданка 1
Сориз (<i>S. orysooidum</i>)	4005 Буджак
	2265 Буджак
	721/1
	1/II
Кукуруза (<i>Zea mays</i>)	Одесский 302
	ГК 26
Рис (<i>Oryza sativa</i>)	Украина

тур в зоне рискованного земледелия Украины находится значительно ниже необходимого уровня, поэтому селекция сориза для юга Украины является важной задачей.

Использование молекулярных маркеров в оценке вариабельности видов и сортов растений позволяет выявить генетические взаимоотношения между ними и уточнить систематику родов растений, включающих виды важнейших сельскохозяйственных культур [8–10]. В этом плане ДНК-технологии и маркеры, генерируемые в результате полимеразной цепной реакции (ПЦР), могут оказаться важным вспомогательным инструментом при классификации сорго.

Для оценки генетических взаимоотношений между видами и установления внутривидовой вариабельности используют, как правило, моно- и полилокусные варианты ПЦР-анализа: ПЦР-анализ произвольно праймированной ДНК (ПП-ПЦР) является полилокусным, биаллельным, доминантным и позволяет одновременно тестировать различные участки генома. Мик-

росателлитные маркеры монолокусны, полиаллельны, кодоминантны, что разрешает их использование в качестве генетических маркеров для анализа аллельного состояния локусов у близких видов растений, в том числе и сорго [11]. Первый вариант ПЦР-анализа дает возможность обнаружить малые генетические различия в результате сканирования большей части генома, чем при использовании других систем ДНК-профилирования [12]. Использование молекулярных маркеров позволяет уточнить происхождение сорта [13].

Целью нашего исследования явилось изучение филогенетических взаимоотношений между видами сорго, включая сориз, и на этой основе определение его возможного происхождения.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили 15 самоопыленных линий пяти видов: сорго зерновой, сорго сахарный, сорго веничное, суданка, сориз, а также кукуруза и рис (табл. 1). Материал любезно предоставлен канд. биол. наук В.Л. Гамандием, сотрудником отдела селекции сорго СГИ – Национальный центр семеноведения и сортоизучения.

ДНК выделяли согласно протоколу с использованием протеиназы К [14].

ПЦР-анализ проводили на термоциклере «Терцик» («ДНК-технология», Россия).

ПП-ПЦР выполняли в следующем режиме: начальная денатурация – 93 °С, 2 мин; далее 30 циклов: 93 °С, 30 с; 55 °С, 30 с; 72 °С, 1 мин; заключительная элонгация – 72 °С, 2 мин.

SSR-ПЦР осуществляли при более высокой температуре денатурации: 96 °С, 2 мин; 30 циклов: 94 °С, 1 мин; 55 °С, 30 с; 72 °С, 1 мин, заключительная элонгация – 72 °С, 2 мин.

Реакционная смесь объемом 20 мкл содержала: буфер (50 мМ KCl; 20 мМ трис-HCl pH 8,4 (25 °С), 2 мМ MgCl₂ 0,01 % твин-20); 0,2 мМ каждого dNTP; 0,2 мкМ праймера; 20 нг ДНК; 1 ед. ДНК-полимеразы Taq. На реакционную смесь наслаивали 20 мкл минерального масла.

Последовательности SSR- и произвольных праймеров представлены в табл. 2 [5, 15].

Продукты амплификации разделяли при помощи электрофореза в горизонтальных «подводных» 2%- и 3%-ных агарозных гелях размером 20,0 × 15,0 × 0,5 см в приборе фирмы «Hofer Scientific Instruments» (США) в 1×TBE-буфере в течение 4 ч при напряжении 100 В и

комнатной температуре. ДНК визуализировали окрашиванием бромистым этидием; гели фотографировали с использованием светофильтра ОС-12 в ультрафиолетовом свете (300 нм) на пленку «Микрат-300». Электрофоретические профили амплифицированной ДНК оценивали визуально и кодировали бинарно: присутствие/отсутствие полосы отмечали «1/0» соответственно. Видеоизображение электрофоретических профилей амплифицированной ДНК получали с помощью системы документации и анализа электрофорезных гелей Image Master VDS («Amersham Pharmacia Biotech», Великобритания).

Расчет генетических дистанций между линиями как по многолокусным, так и по однолокусным данным и их кластерный анализ UPGMA проведены с помощью компьютерной программы «TREE 4.0» [16].

Уровень полиморфизма оценивали в процентах как отношение полиморфных ПЦР-ампликонов к общему числу детектированных ПЦР-ампликонов по формуле

$$P = n_p / n_p + n_{np} \cdot 100 \%,$$

где n_p – число полиморфных ПЦР-ампликонов, а n_{np} – число неполоморфных ПЦР-ампликонов.

Для каждого SSR-локуса определяли индекс полиморфности Polymorphic Index Content (PIC) по формуле,

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n f_i^2,$$

где f_i^2 – частота i -го аллеля.

Результаты исследования и их обсуждение. ПП-ПЦР-анализ для дифференциации и идентификации линий сорго и сориза. ПЦР-анализ с использованием десяти произвольных праймеров позволил дифференцировать образцы сорго, сориза и их ближайших сородичей. Спектры амплификации ДНК исследованной выборки включали от 14 до 23 компонентов. Проанализировано 183 ампликона. Учитывали только мажорные фрагменты, воспроизводимые при повторной амплификации. Уровень полиморфизма между образцами выборки, принадлежащими к различным родам и видам, составил 100 %.

По суммарным данным ПЦР-анализа проведен расчет генетических дистанций и кластеризация исследуемых видов (рисунок). Зна-

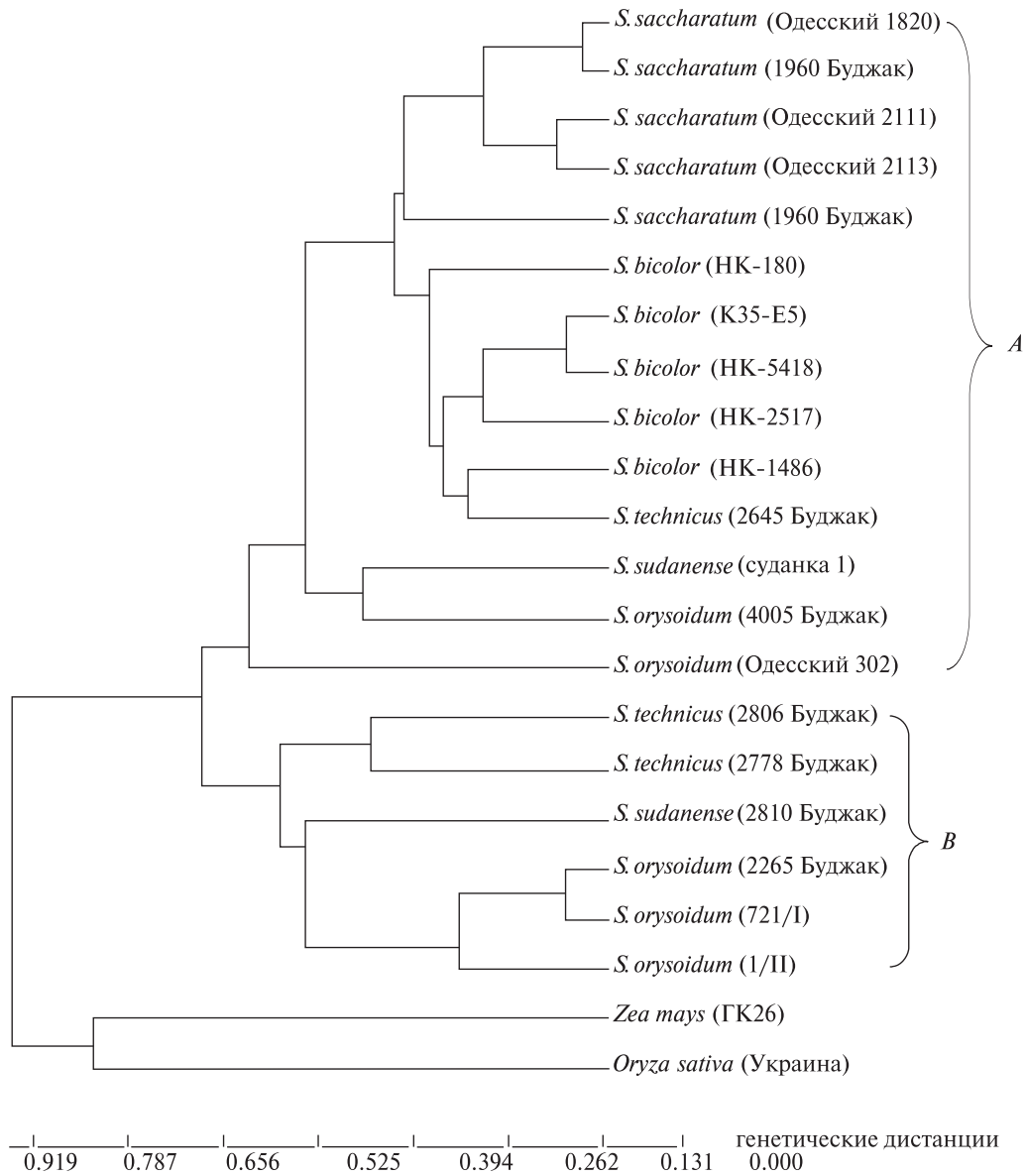
Таблица 2

Список праймеров

Праймер	Последовательность (5'-3')
p 13	tgt gag tag agg aga cct cac att
p 32	tcg tcg atc gcg
p 37	ctg ccc agc c
p 39	cca gtt cgc c
p 43	agt cag ctg c
p 44	gga ccc cgc c
p 48	gcg gtg ctc g
p 49	gac agc cta c
p 57	tca gga cga tac
p 83	gcc gtg aag cct gat gcc
Sb4-32	*F: ctc ggc ggt tag cac agt cac **R: gcc cat aga cag aca gca aag cc
Sb4-12	F: gaa aaa tct ccg tca atc cca aaa taa R: cgc tga aca acg aaa gga ata agt g
Sb6-36	F: aac agc at aat gcc aca c R: tag ctt ggt aga gaa ctt gct ttc
Sb6-57	F: aca ggg ctt tag gga aat cg R: cca tca ccg tcg gca tct
Sb6-84	F: cgc tct cgg gat gaa tga R: taa cgg acc act aac aaa tga tt
Xtxp 18	F: act gtc tag aac aac ctg cg R: ttg ctc tag cta gcc att tc
Xtxp 250	F: gca cat cct cta aaa cta ctt agt R: gaa cag gac gat gtg ata gat
Xtxp 400	F: cta gag acc gac gcg tgt ata gt R: gca tct atc ttc act ccg att ct
Xtxp 406	F: ggc ctg aat ctc agt gtt aag R: agt tgc ctg ctt cga cac tt

* F – forward (прямой); ** R – reverse (обратный).

чение генетических дистанций варьировало от 0,111 до 0,993. На дендрограмме представлены образцы, принадлежащие к трем родам: *Sorghum bicolor* M., *Zea mays* L., *Oryza sativa* L. Генетическая дистанция между выборкой, состоящей из образцов рода *Sorghum*, и кластером, включающим представителей рода *Zea* и *Oryza*, составляет 0,989. В свою очередь *Zea* и *Oryza* отдалены друг от друга с коэффициентом 0,800. Это демонстрирует генетическую удаленность рода *Sorghum* от кукурузы и риса. Род *Sorghum* представлен выборкой из 20 образцов, пять из которых составляют *Sorghum orysooidum*, сформировавших основной кластер дендрограммы, внутри которого уровень молекулярно-гене-



Дендрограмма филогенетических взаимоотношений исследованных образцов по данным ПП-ПЦР-анализа

тического полиморфизма равен 96,2 %. В кластере образцы сорго распределились в два субкластера (А и В). Первый субкластер (А) состоял из трех групп. В первую группу вошли образцы сахарного сорго (Одесский 1820, 1969 Буджак, 2179 Буджак, Одесский 2111 и 2113), вторая группа включала зерновое сорго (НК-180, К35-Е5, НК-5418, НК-2517, НК-1486) и одного представителя веничного – 2645 Буджак. Третью группу образцовали представители суданки

и сориза (4005 Буджак и Одесский 302). Во второй субкластер (В) вошли веничное сорго (2778 и 2806 Буджак), суданка (2810 Буджак) и сориз (2265 Буджак, 721/І и 1/ІІ). Кластеризация генотипов по данным ПП-ПЦР-анализа отобразила принадлежность образцов указанной выборки к группам, соответствующим идентификации по хозяйственным признакам, и позволила выявить близкородственность сориза с зерновым сорго. На основании молеку-

лярно-генетического анализа можно сделать вывод о том, что сориз является формой сорго и не несет фрагментов ДНК, полученных от отдаленной гибридизации. В этом случае генетические дистанции между соризом и другими формами сорго были бы больше, чем внутри-видовые. Выделение сориза в вид *Sorghum orysoidum* связано не с генетическими, а с хозяйственно ценными особенностями.

SSR-анализ. Для идентификации исследуемых образцов использовали микросателлитные маркеры, разработанные для сорго. Факт амплификации ДНК сориза с праймерами, разработанными для сорго, подтверждает их генетическую близость.

На основании молекулярно-генетического анализа девяти микросателлитных локусов для каждого генотипа получен индивидуальный набор аллелей, что позволило составить генетические формулы. Буквой латинского алфавита обозначен код локуса, в нижнем индексе приведена молекулярная масса аллеля (табл. 4). Гомозиготное состояние анализируемых линий подтверждается данными SSR-анализа (табл. 3).

Наши данные о молекулярно-генетическом полиморфизме сорго находятся в соответствии с исследованиями филогенетического разнообразия сорго, проведенными Agrama et al. [5], которые с использованием RAPD и SSR ПЦП изучили 22 генотипа сорго с важными агрономическими признаками. Анализ генетического разнообразия видов сорго показал высокий уровень полиморфизма, основанный на географическом происхождении и расовой классификации. В работе Folkertsma et al. [17] с использованием SSR праймеров показано генетическое разнообразие между популяциями образцов сорго из десяти африканских стран, представленных четырьмя эко-географическими регионами, и Индией (Южная Азия). Выявлено 123 аллеля с коэффициентом схожести 0,37 среди 4,95 пар исследованных образцов, у которых приблизительно 50 % аллелей встречались редко [17].

Формы сорго украинской селекции несколько отличаются от форм из традиционных зон возделывания более коротким вегетационным периодом и другими показателями [7]. В то же время за период селекции сорго в этой зоне соз-

Таблица 3

Кодировка и аллельная характеристика исследованных SSR-локусов

Локус	Код локуса	Длина аллелей	Встречаемость
Sb4-32	A	195	0,05
		198	0,20
		201	0,60
		204	0,05
		207	0,10
Sb4-121	B	185	0,05
		188	0,10
		191	0,10
		194	0,05
		197	0,05
		200	0,05
		203	0,10
Sb6-57	C	206	0,50
		290	0,15
		293	0,25
		296	0,15
		299	0,20
Sb6-84	D	302	0,25
		177	0,15
		180	0,15
		183	0,15
		186	0,25
Xtxp 18	E	189	0,15
		192	0,15
		128	0,05
		131	0,10
		134	0,40
Xtxp 250	F	137	0,10
		140	0,35
		406	0,20
		409	0,25
		412	0,20
Xtxp 400	G	415	0,15
		418	0,15
		421	0,05
		338	0,05
		441	0,05
Xtxp 406	H	444	0,30
		447	0,15
		450	0,05
		453	0,05
		456	0,15
Sb6-36	I	459	0,20
		370	0,60
		373	0,25
		376	0,15
		160	0,60
		163	0,25
		166	0,05
		169	0,10

Генетические формулы линий исследованных генотипов

Линия	Формула
НК-180	A ₂₀₁ , B ₂₀₃ , C ₂₉₃ , D ₁₈₀ , E ₁₂₈ , F ₄₁₈ , G ₃₃₈ , H ₃₇₀ , I ₁₆₉
K35-E5	A ₁₉₅ , B ₂₀₃ , C ₂₉₃ , D ₁₈₀ , E ₁₂₈ , F ₄₁₈ , G ₃₃₈ , H ₃₇₀ , I ₁₆₉
НК-5418	A ₂₀₁ , B ₂₀₀ , C ₂₉₉ , D ₁₈₃ , E ₁₂₈ , F ₄₁₈ , G ₃₃₈ , H ₃₇₀ , I ₁₆₉
НК-2517	A ₂₀₁ , B ₂₀₀ , C ₂₉₃ , D ₁₈₀ , E ₁₃₁ , F ₄₁₈ , G ₃₃₈ , H ₃₇₃ , I ₁₆₉
НК-1486	A ₂₀₁ , B ₂₀₆ , C ₂₉₃ , D ₁₈₉ , E ₁₃₄ , F ₄₁₂ , G ₄₅₃ , H ₃₇₃ , I ₁₆₀
Одесский 1800	A ₂₀₁ , B ₁₉₇ , C ₂₉₉ , D ₁₇₇ , E ₁₄₀ , F ₄₁₂ , G ₄₅₀ , H ₃₇₃ , I ₁₆₉
1969 Буджак	A ₂₀₁ , B ₁₉₄ , C ₂₉₆ , D ₁₈₆ , E ₁₃₄ , F ₄₁₅ , G ₄₄₇ , H ₃₇₆ , I ₁₆₉
Одесский 2111	A ₂₀₁ , B ₁₉₁ , C ₂₉₆ , D ₁₈₆ , E ₁₃₄ , F ₄₁₅ , G ₄₄₄ , H ₃₇₆ , I ₁₆₉
Одесский 2113	A ₂₀₄ , B ₁₈₅ , C ₂₉₃ , D ₁₉₂ , E ₁₃₄ , F ₄₁₅ , G ₄₄₁ , H ₃₇₆ , I ₁₆₉
2179 Буджак	A ₂₀₄ , B ₁₈₅ , C ₂₉₆ , D ₁₈₉ , E ₁₂₈ , F ₄₂₁ , G ₄₄₁ , H ₃₇₃ , I ₁₆₆
2645 Буджак	A ₂₀₄ , B ₁₈₅ , C ₃₀₂ , D ₁₉₂ , E ₁₃₁ , F ₄₂₁ , G ₄₄₁ , H ₃₇₀ , I ₁₆₆
2806 Буджак	A ₂₀₇ , B ₁₈₅ , C ₂₉₉ , D ₁₈₉ , E ₁₃₄ , F ₄₁₅ , G ₄₅₀ , H ₃₇₀ , I ₁₆₆
2778 Буджак	A ₂₀₁ , B ₁₈₅ , C ₂₉₉ , D ₁₇₇ , E ₁₃₄ , F ₄₁₅ , G ₄₅₀ , H ₃₇₀ , I ₁₆₆
2810 Буджак	A ₁₉₈ , B ₁₈₅ , C ₃₀₂ , D ₁₈₃ , E ₁₈₆ , F ₄₂₁ , G ₄₅₆ , H ₃₇₀ , I ₁₆₆
Суданка I	A ₂₀₁ , B ₁₈₅ , C ₂₉₃ , D ₁₉₂ , E ₁₃₇ , F ₄₁₅ , G ₄₅₃ , H ₃₇₃ , I ₁₆₃
4005 Буджак	A ₂₀₄ , B ₁₈₅ , C ₂₉₀ , D ₁₈₆ , E ₁₃₄ , F ₄₀₉ , G ₄₅₃ , H ₃₇₀ , I ₁₆₉
2265 Буджак	A ₂₀₁ , B ₁₈₅ , C ₂₉₀ , D ₁₈₃ , E ₁₃₄ , F ₄₀₉ , G ₄₅₃ , H ₃₇₀ , I ₁₆₉
721/ I	A ₂₀₁ , B ₁₈₅ , C ₂₉₀ , D ₁₈₃ , E ₁₂₈ , F ₄₀₉ , G ₄₅₃ , H ₃₇₀ , I ₁₆₉
1/ II	A ₂₀₁ , B ₁₈₅ , C ₂₉₀ , D ₁₈₀ , E ₁₂₈ , F ₄₁₂ , G ₄₅₃ , H ₃₇₀ , I ₁₆₉
Одесский 302	A ₁₉₅ , B ₁₈₅ , C ₂₉₀ , D ₁₇₇ , E ₁₂₈ , F ₄₀₆ , G ₄₅₉ , H ₃₇₀ , I ₁₆₀

дан разнообразный генетический материал, позволяющий вести планомерное улучшение этой культуры. В нашей работе исследованы пять линий сориза разной селекции: три линии (Одесский 302, 721/ I и 1/ II), по морфологическим и агрономическим признакам отличающиеся от сорго, и две линии (4005 Буджак и 2265 Буджак), подобные по морфологии. По данным ПП-ПЦР-анализа пять линий вошли в разные кластеры. Национальный стандарт Одесский 302 и 4005 Буджак распределились в первый кластер (А), что помогло нам выявить их близкородственность с зерновым сорго и суданкой. Два других генотипа (2265 Буджак, 721/ I и 1/ II) образовали субкластер и вошли во второй кластер (В), который представлен, кроме сориза, суданкой и веничным сорго. Молекулярно-генетический анализ свидетельствует о том, что сориз является формой сорго, а не продуктом отдаленной гибридизации. Технологические качества зерна сориза, напоминающие качества зерна риса, являются результатом того, что многие гены злаков имеют общее происхождение и сходное расположение в геноме.

Авторы выражают глубокую благодарность д-ру с.-х. наук Г.К. Дремлюку и канд. биол. наук В.Л. Гамандию за предоставленный материал и обсуждение результатов исследования.

A.Yu. Shevchuk, N.E. Kozhukhova, Yu.M. Sivolap

MOLECULAR ANALYSIS OF THE GENOTYPES OF SORGHUM CULTIVATED IN UKRAINE

PCR-analysis of intraspecific and interspecific polymorphism of sorghum, soryz and their nearest relatives (maize, rice) has been conducted. The level of polymorphism within the sample was 100 %. Interspecific polymorphism (species of sorghum and soryz) was 96,2 % that testifies the wide changeability of the analyzed samples. Clusterisation of the genotypes occurred according to their species.

Г.Ю. Шевчук, Н.Э. Кожухова, Ю.М. Сиволап

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ФОРМ СОРГО, ЩО ВИРОЩУЮТЬСЯ В УКРАЇНІ

Проведено, ПЛР-аналіз міжродового та міжвидового поліморфізму сорго, сорізу та їх найближчих родичів (кукурудза, рис). Рівень поліморфізму в межах вибірки склав 100 %, міжвидовий поліморфізм (види сорго та сорізу) – 96,2 %, що свідчить про широку мінливість досліджуваних зразків. Кластеризація генотипів здійснилась згідно з їх видовою належністю.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шульдин А.Ф. Тритикале – новая зерновая и кормовая культура. – Киев : Урожай, 1981. – 47 с.
2. Чеботар С.В., Хохлов О.М., Куракіна К., Сиволап Ю.М. Аналіз алельного стану генів Pina-D1 та Pinb-D1 в генотипах української пшениці // Вісн. СГІ. – 2007. – № 9. – С. 140–149.
3. Петрова И.В., Чеботарь С.В., Рыбалка А.И., Сиволап Ю.М. Идентификация Wx генотипов среди различных сортов мягкой озимой пшеницы // Цитология и генетика. – 2007. – 41, № 6. – С. 11–17.
4. Созинов А.А. Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М.: Наука, 1985. – 272 с.
5. Agrata H.A., Tuinstra M.R. Phylogenetic diversity and relationships among sorghum accessions using SSRs and RAPDs // African J. Biotechnol. – 2003. – 2, № 10. – P. 334–340.
6. Иванович Л.К., Доронина Ю.А. Обзор классификации сорго *Sorghum Moench* // Тр. по приклад. ботанике, генетике и селекции. – 1980. – 69, вып. 1. – С. 18–27.
7. Дремлюк Г.К. Сориз – культура третьего тысячелетия. – Одесса, 1998. – 121 с.
8. Сиволап Ю.М., Календарь Р.Н. Генетический полиморфизм ячменя, выявляемый ПЦР с произвольными праймерами // Генетика. – 1995. – 31, № 10. – С. 1358–1364.
9. Кожухова Н.Э., Сиволап Ю.М. Молекулярные маркеры в генетико-селекционных исследованиях кукурузы // Цитология и генетика. – 2006. – 40, № 5. – С. 82–93.
10. Сиволап Ю.М., Волкодав В.В., Бальвінська М.С., Кожухова Н.Е., Солоденко А.С., Чеботар С.В. Ідентифікація і реєстрація генотипів м'якої пшениці (*Triticum aestivum* L.), ячменю (*Hordeum vulgare* L.), кукурудзи (*Zea mays* L.), соняшника (*Helianthus annuus* L.) за допомогою аналізу мікросателітних локусів : Метод. рекомендації. – Одесса, 2004. – 14 с.
11. Taramino G., Tarchini R. Characterization and mapping of simple sequence repeats (SSRs) in *Sorghum bicolor* // Theor. and Appl. Genet. – 1997. – 95, № 1/2. – P. 66–72.
12. Календарь Р.Н., Сиволап Ю.М. Полимеразная цепная реакция с произвольными праймерами // Биополимеры и клетка. – 1995. – № 3/4. – С. 55–65.
13. Сиволап Ю.М., Галаев А.В., Нестерец В.Г. Дифференциация и идентификация сортов пшеницы и тритикале при помощи ДНК-типирования // Вісн. Укр. товариства генетиків і селекціонерів. – 2004. – 2, № 1. – С. 3–15.
14. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях (научно-методическое руководство) / Под ред. Ю.М. Сиволапа. – К.: Аграр. наука, 1998. – 156 с.
15. Klein R., Klein P., Mullet J., Minx P., Rooney W., Schertz K. Fertility restorer locus Rf1 of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) encodes a pantatricopeptide repeat protein not present in the collinear region of rice chromosome 12 // Theor. and Appl. Genet. – 2005. – 111. – P. 994–1012.
16. Календарь Р.Н. Компьютерная программа для построения эволюционных деревьев на основе электрофоретических маркеров ДНК и белков // Молекулярно-генетические маркеры и селекция растений : Материалы конф. – К., 1994. – С. 25–26.
17. Folkertsma R., Frederick H., Raju G., Hash C. The pattern of genetic diversity of Guinea-race *Sorghum bicolor* (L.) Moench landraces as revealed with SSR markers // Theor. and Appl. Genet. – 2005. – 111. – P. 399–409.

Поступила 14.01.08