

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ВЗАИМОСВЯЗЕЙ СОРТОВ РИСА ИЗ РАЗНЫХ ЭКОЛОГО-ГЕОГРАФИЧЕСКИХ ГРУПП С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ SSR МАРКЕРОВ

Супрун И. И.^{1,2}, Ковалев В. С.¹, Коротенко Т. Л.¹, Степанов И. В.², Лободина Е. В.²

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт риса 350921, Россия, г. Краснодар, п. Белозерный, д. 3

² Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия. 350901, Россия, г. Краснодар, ул. 40-летия Победы, д. 39

e-mail: supruni@mail.ru

Микросателлитные ДНК-маркеры нашли широкое применение в генетических исследованиях риса: как в части изучения генетического разнообразия коллекций генетических ресурсов, выяснении микроэволюционных процессов в пределах рода *Oryza* L. и при анализе генетических взаимосвязей генофондов из разных регионов мира, так и в картировании генов, при выполнении маркер-опосредованного отбора в селекции, а также ДНК-паспортизации сортов. Учитывая объем коллекции генофонда Всероссийского научно-исследовательского института риса, насчитывающей в общей сложности около 7000 образцов, актуальным является вопрос анализа ее генетической структуры и изучения генетического разнообразия, в том числе и с использованием молекулярно-генетических методов. Целью работы являлось выяснение генетических взаимосвязей современных отечественных сортов риса и сортов из различных регионов Азии (Средняя Азия, Восточная Азия) и представляющих различные эколого-географические группы с применением микросателлитных ДНК-маркеров. Объектом исследования являлись 32 сорта риса, представляющие три различных эколого-географических группы: восточную, среднеазиатскую и европейскую. В работе использовали 10 SSR-маркеров, по которым было выявлено от двух (RM11, RM316, RM19) до восьми аллелей (RM1). Суммарно по десяти локусам было идентифицировано 46 аллелей. Среднее значение показателя PIC – 0,45. Результаты Байесовского анализа и кластеризации методом UPGMA позволили сделать заключение о сложной генетической структуре изученной выборки образцов, что согласуется с наличием сортов из разных эколого-географических групп (ЭГГ). Был выявлен ряд сортов, занимающих переходное положение между эколого-географическими группами, что, очевидно, является следствием активного использования в селекции скрещиваний сортов, относящихся к разным ЭГГ. Отнесение отечественных сортов, которые, в соответствии с морфологическими характеристиками, принадлежат к европейской эколого-географической группе, к группе сортов, включающей также некоторые сорта из средней Азии и из восточной ЭГГ, является следствием использования в отечественной селекции сортов, принадлежавших к данному эколого-географическим группам.

Ключевые слова: рис, *Oryza sativa*, коллекции генофонда, генетическое разнообразие, микросателлитные ДНК-маркеры, эколого-географические группы сортов.

Благодарности: Исследование выполнено при поддержке РФФИ и администрации Краснодарского края (проект № 16-44-230244 p_a)

Прозрачность финансовой деятельности: автор не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. Конфликт интересов отсутствует.

Супрун И. И., Ковалев В. С., Коротенко Т. Л., Степанов И. В., Лободина Е. В. Анализ генетических взаимосвязей сортов риса из разных эколого-географических групп с использованием SSR-маркеров.

Биотехнология и селекция растений. 2019; 2(1): 7-15.

DOI: 10.30901/2658-6266-2019-1-7-15

Suprun I. I., Kovalyov V. S., Korotenko T. L., Stepanov I. V., Lobodina E. V. Analysis of genetic relationships among rice cultivars from different ecogeographic groups using SSR markers.

Plant Biotechnology and Breeding. 2019; 2(1): 7-15.

DOI: 10.30901/2658-6266-2019-1-7-15

Супрун И. И. orcid.org/0000-0003-0355-8395 [1]

ANALYSIS OF GENETIC RELATIONSHIPS AMONG RICE CULTIVARS FROM DIFFERENT ECOGEOGRAPHIC GROUPS USING SSR MARKERS

Suprun I. I.^{1,2}, Kovalyov V. S.¹, Korotenko T. L.¹, Stepanov I. V.², Lobodina E. V.²

¹ All-Russian Rice Research Institute 3, pos. Belozerny, Krasnodar, 350921, Russia

² North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture and Winemaking 39, ul. 40-letia Pobedy, Krasnodar, 350901, Russia

e-mail: supruni@mail.ru

Microsatellite DNA markers are widely used in genetic research on rice: for studying the genetic diversity of genetic resources collections, identifying microevolutionary processes within the genus *Oryza* L. and analyzing genetic relationships of gene pools from different regions of the world, as well as in gene mapping and performing marker-assisted selection in breeding. Given the size of the collection held by the All-Russian Rice Research Institute, which has a total of about 7,000 accessions, it is important to analyze its genetic structure and study genetic diversity, including the use of molecular genetic methods. The aim of the work was to clarify the genetic relationships among modern Russian rice varieties and varieties from different regions of Asia (Central Asia or East Asia) representing various ecogeographic groups using microsatellite DNA markers. The material of the study was 32 rice cultivars representing three different ecogeographic groups: Eastern, Central Asian and European. We used 10 SSR markers, which showed a level of polymorphism from 2 (RM11, RM316, RM19) to 8 alleles (RM1). For a total of ten loci, 46 alleles were identified. The average PIC was 0.45. The results of the Bayesian analysis and clustering using the UPGMA method made it possible to make a conclusion about the complex genetic structure of the set of the studied cultivars, which is consistent with the presence of cultivars from different ecogeographic groups (EGG). A number of cultivars that occupy an intermediate position between ecogeographic groups were identified, which obviously is a consequence of the active use of crosses between cultivars belonging to different EGGs in the process of breeding. Russian cultivars, which according to their morphological characteristics belong to the European ecogeographic group, were attributed to the group which also included some varieties from Central Asia and from the Eastern EGG. It was a consequence of the use of cultivars belonging to different ecogeographic groups in domestic breeding programs.

Keywords: rice, *Oryza sativa*, germplasm collections, genetic diversity, microsatellite DNA markers, ecogeographic groups of cultivars.

УДК: 575.22 : 633.181.2

Поступила в редакцию: 08.12.2018

Принята к публикации: 15.01.2019

Введение

Микросателлитные ДНК-маркеры в настоящее время широко используются при изучении генетических ресурсов культурных растений. Они эффективно применяются в оценке генетического разнообразия – как в части изучения генетической структуры коллекций генетических ресурсов, так и при выяснении путей формирования локальных генофондов и их взаимосвязей с генплазмой из других регионов возделывания культур. Наряду с этим SSR-маркеры эффективно используются в популяционно-генетических исследованиях, в картировании генов и при выполнении маркер-опосредованного отбора в селекции, а также для ДНК-паспортизации сортов и определения сортовой принадлежности образцов.

Высокая эффективность SSR-маркеров во многом обеспечивается некоторыми их характеристиками: высоким уровнем аллельного полиморфизма SSR-локусов, кодоминантностью, удобством в работе и высоким уровнем воспроизводимости результатов, распределением по всему геному, позволяющим получать генетические карты с достаточным уровнем насыщения.

Суммарное количество микросателлитных локусов с ди-, три- и тетра-нуклеотидным повтором у риса составляет около 100 000. При этом области генома, которые более богаты генами, также являются более богатыми и на SSR-последовательности (McCouch et al., 2008).

В генетических исследованиях риса микросателлитные ДНК-маркеры широко используются: при изучении генетического разнообразия коллекций генетических ресурсов, выяснении микроэволюционных процессов в пределах рода *Oryza* L., при анализе генетических взаимосвязей генофондов из разных регионов мира.

Одним из примеров использования SSR-маркеров для выяснения путей формирования автохтонного культурного генофонда является работа группы индийских исследователей, в которой были изучены генетические взаимосвязи между дикорастущими местными видами риса, стародавними сортами местной селекции и новыми, современными сортами. На основе анализа полиморфизма 25 SSR-маркеров было выявлено, что наибольшим уровнем полиморфизма обладала выборка видовых образцов, наименьшим – выборка, включавшая современные сорта, а стародавние сорта местной селекции по уровню полиморфизма заняли промежуточное положение. На основе этого авторы сделали вывод о перспективности включения в селекционный процесс автохтонных сортов с целью увеличения уровня генетического разнообразия культурного генофонда риса (Ram et al., 2007). Анализ генетических взаимосвязей с использованием 50 SSR-маркеров в репрезентативной выборке, включавшей 23 сорта риса из генетических коллекций Ирана, позволил разделить сорта на группы, соответствующие их происхождению: автохтонные сорта местной селекции,

современные иранские сорта и сорта подвидов *indica* из Азии, а также группу, включающую сорта подвида *japonica* (Moumeni et al., 2003).

В совместной работе китайских и южнокорейских ученых на основе анализа SSR-полиморфизма в выборке из 150 сортов риса было установлено, что представленные группы китайских и южнокорейских сортов обладают близким уровнем полиморфизма, превышающим аналогичный показатель выборки японских сортов (Weiguo et al., 2009). В работе Yelome с соавторами SSR-маркеры были успешно применены для оценки генетических взаимосвязей и структуры репрезентативной выборки, включавшей 42 сорта риса из шести стран Западной Африки и представлявшей собой коллекцию, сформированную по географическому принципу и на основе данных о генетических дистанциях между сортами. В данной работе SSR-маркеры, использованные в сочетании с AFLP-маркерами для анализа сортов, принадлежащих к видам *Oryza glaberrima* L. и *Oryza sativa* L., позволили выявить наличие потока генов между данными видами. Это выразилось в наличии общих аллелей по значительному количеству SSR-маркеров (по 18 из 20) для ряда сортов, принадлежащих к этим двум видам и вошедшим в общие группы генетического сходства (Yelome et al., 2018).

Помимо изучения генетической структуры и уровня полиморфизма коллекций генофондов, SSR-маркеры успешно применяются и при изучении генетического разнообразия природных популяций дикорастущих предковых видов риса (Gao et al., 2005), а также в исследованиях процессов образования автохтонного генофонда и вклада местных видов в его формирование (Choudhary et al., 2013; Michael et al., 2007; Basabadda et al., 2013).

Коллекция генофонда Всероссийского научно-исследовательского института риса насчитывает порядка 7000 образцов: рабочей коллекции – около 5000 образцов, мировой коллекции ВИР – 208 образцов и около 2000 форм риса, интродуцированных из 40 стран мира. При этом генофонд представлен 82 разновидностями и двумя подвидами: *Oryza sativa* subsp. *indica* и *Oryza sativa* subsp. *japonica*. В коллекции представлены образцы, относящиеся к 7 эколого-географическим группам (ЭГГ). Существенная часть современных сортов может проявлять переходные между эколого-географическими группами характеристики. Имеется значительное разнообразие по признакам морфотипа растений: высота растений, форма метелки, ширина и длина листовой пластины, угол отклонения флагового листа от стебля, окраска и опушенность листа и пр. Из интродуцированного генофонда по адаптивности к условиям региона в качестве наиболее перспективных можно определить раннеспелые формы из Японии, Кореи, Казахстана и Украины (Korotenko, 2018).

Изучение эколого-географического и внутривидового разнообразия риса позволяет определять параметры, по которым отбираются генотипы, соответствующие

требованиям селекции рисосеющего региона России. Одним из эффективных инструментов при определении уровня разнообразия коллекций генофонда и ее структуры являются ДНК-маркеры, среди которых микросателлиты можно выделить как одни из наиболее перспективных. В России до настоящего времени не выполнялось исследований, направленных на изучение генетических взаимосвязей отечественных сортов риса и сортов, представляющих разные эколого-географические группы. В связи с этим целью работы являлось выяснение генетических взаимосвязей современных отечественных сортов риса и сортов из различных регионов Азии (Средняя

Азия, Восточная Азия), представляющих различные эколого-географические группы.

Материал и методы исследования

Объектом исследования послужили 32 сорта риса из коллекции генофонда Всероссийского научно-исследовательского института риса (г. Краснодар, пос. Белозерный), подвиды *japonica*, представляющие различные эколого-географические группы. Сорта и их краткая характеристика приведены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика коллекционных образцов риса по биологическим и морфологическим признакам

Table 1. Characteristics of the rice accessions according to their biological and morphological traits

№ п. п.	Сорта	Страна	ЭГТ	Разновидность	Период вегетации, дней	Высота растений, см	Форма метелки
1.	Фаворит	Россия	Европейская	<i>italica</i>	112	96,0	слаборазвесистая
2.	Диамант	Россия	Европейская	<i>italica</i>	114	85,0	компактная
3.	Анаит	Россия	Европейская	<i>subvulgaris</i>	105	102,0	среднеразвесистая
4.	Вираз	Россия	Европейская	<i>nigro-apiculata</i>	105	86,0	компактная
5.	Дружный	Россия	Европейская	<i>italica</i>	110	97,5	слаборазвесистая
6.	Кулон	Россия	Европейская	<i>italica</i>	126	78,0	компактная
7.	Лиман	Россия	Европейская	<i>subvulgaris</i>	118	94,0	компактная
8.	Олимп	Россия	Европейская	<i>italica</i>	120	87,0	компактная
9.	Полевик	Россия	Европейская	<i>italica</i>	107	94,0	слаборазвесистая
10.	Регул	Россия	Европейская	<i>subvulgaris</i>	115	88,0	компактная
11.	Ренар	Россия	Европейская	<i>nigro-apiculata</i>	120	96,0	слаборазвесистая
12.	Славянец	Россия	Европейская	<i>italica</i>	116	89,0	компактная
13.	Соната	Россия	Европейская	<i>nigro-apiculata</i>	117	98,5	компактная
14.	Старт	Россия	Европейская	<i>italica</i>	114	75,0	компактная
15.	Янтарь	Россия	Европейская	<i>italica</i>	110	95,0	компактная
16.	Китайский	Россия/ Приморье	Восточная	<i>italica</i>	102	83,0	слаборазвесистая
17.	Уссур	Россия/ Приморье	Восточная	<i>italica</i>	98	87,0	слаборазвесистая

№ п. п.	Сорта	Страна	ЭГТ	Разновидность	Период вегетации, дней	Высота растений, см	Форма метелки
18.	Приморский 29	Россия/Приморье	Восточная	italica	95	97,0	слаборазвесистая
19.	Талмас 2	Узбекистан	Среднеазиатская	italica	110	82,0	слаборазвесистая
20.	Арал 22	Казахстан	Среднеазиатская	zeravschanica	85	101,5	среднеразвесистая
21.	Крос 358	Казахстан	Среднеазиатская	erythroceros	105	90,5	среднеразвесистая
22.	Баканасский	Казахстан	Среднеазиатская	vulgaris	108	105,0	среднеразвесистая
23.	Баракат	Казахстан	Среднеазиатская	italica	100	85,0	слаборазвесистая
24.	Odaebueo	Корея	Восточная	italica	120	75,8	среднеразвесистая
25.	Jibu	Корея	Восточная	italica	125	76,0	слаборазвесистая
26.	Undong 5	Корея	Восточная	italica	105	94,0	слаборазвесистая
27.	Geumobueo	Корея	Восточная	italica	118	82,5	слаборазвесистая
28.	Kuro-mochi	Япония	Восточная	paluedica	98	104,0	среднеразвесистая
29.	Kanto 51	Япония	Восточная	nigro-apiculata	148	77,0	среднеразвесистая
30.	Ischikari	Япония	Восточная	italica	128	88,0	среднеразвесистая
31.	Aichi Asachi	Япония	Восточная	italica	130	77,0	слаборазвесистая
32.	Igisakau	Япония	Восточная	italica	112	75,0	слаборазвесистая

Экстракцию ДНК проводили из 7–10-дневных проростков методом ЦТАБ (Murray, 1980). В работе использовали следующие микросателлитные ДНК-маркеры: RM1, RM11, RM122, RM168, RM167, RM164, RM44, RM316, RM19, RM474 (Panaud et al., 1996; McCouch et al., 1997). При генотипировании SSR-маркеры распределили в мультиплексные наборы, как апробированные ранее, так и сформированные в ходе выполнения исследования (Suprun et al., 2015). Для всех мультиплексных наборов использовали общие, унифицированные реакционные условия. ПЦР проводили в 25 мкл смеси содержащей 50–70 нг ДНК, 0,1 mM dNTPs (дезоксинуклеотидтрифосфаты), 0,3 мкМ каждого праймера, 2,5 мкл 10X реакционного буфера, 2,5 mM MgCl₂, 1 е. а. Taq-полимеразы. ПЦР проводили по следующей схеме: 5 мин при 95 °C – начальная денатурация, далее 35 циклов: 30 секунд денатурации при 95 °C, 30 сек отжиг праймеров при 57 °C, 30 сек элонгация при 72 °C; финальный цикл элонгации – 3 мин при 72 °C. ДНК-амплификацию проводили в амплификаторе Bio-Rad T100. Анализ размеров амплифицированных фрагментов проводили на автоматическом генетическом анализаторе ABI Prism 3130. Обработку данных осуществляли в программе Gene Mapper 4.1. Для статистической обработки результатов SSR-генотипирования и анализа генетических взаимосвязей изученной выборки генотипов использова-

ли пакет программ PAST version 2.17с. Для оценки генетической структуры выборки использовалась программа Structure 2.3.4. В расчете были использованы различные значения гипотетических популяций от K = 2 до K = 5 (burn-in period = 500,000; 500,000 iterations).

Результаты

Использование мультиплексного анализа при унифицированных условиях ПЦР позволило выполнить эффективную идентификацию целевых амплифицированных фрагментов при проведении электрофоретического анализа (рис. 1).

Как видно из рисунка, для каждого из маркеров идентифицируются специфичные для него пики на электрофореграмме, соответствующие флуорофору каждого из маркеров.

В результате анализа экспериментальной выборки образцов, включающей 32 сорта и представляющей генофонд риса из пяти стран и трех эколого-географических зон, был выявлен уровень аллельного полиморфизма от двух до восьми аллелей на локус (табл. 2). Суммарное количество аллелей по десяти использованным SSR-маркерам составило 46 при среднем показателе 4,6 аллелей на локус. Показатель PIC варьировал от 0,1103 до 0,7715 при среднем значении 0,45064. Как видно из таблицы, наиболее полиморфными оказались SSR-маркеры RM1, RM 122, RM164, RM44.

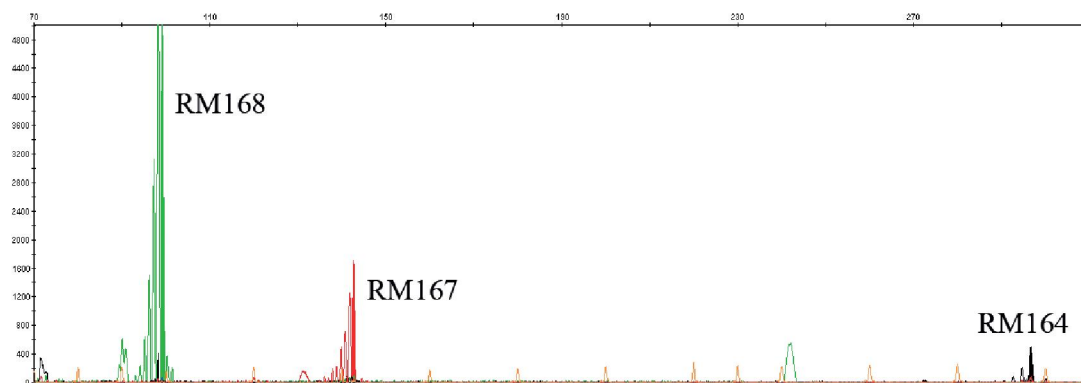


Рис. 1. Пример результатов фрагментного анализа, выполненного на анализаторе ABI Prism 3130 по мультиплексному набору, включающему микросателлитные ДНК-маркеры RM168, RM167 и RM164. Сорт риса Уссур

Fig. 1. The results of an analysis performed on the ABI Prism 3130 analyzer for a multiplex set with DNA markers RM168, RM167 and RM164. Ussur rice variety

Таблица 2. Характеристики SSR-маркеров, использованных для генотипирования сортов риса
Table 2. Characteristics of SSR markers used for genotyping of rice varieties

SSR-маркер/SSR marker	Флуорофор/ Fluorescent label	Кол-во аллелей/ Number of alleles	PIC	Диапазон размера фрагментов/Size range
RM168	R6G	3	0.4742	96–99
RM167	TAMRA	5	0.5041	145–153
RM164	ROX	7	0.7148	259–305
RM122	FAM	7	0.6444	224–233
RM1	TAMRA	8	0.6997	81–100
RM11	ROX	2	0.1103	127–133
RM44	ROX	7	0.7715	94–130
RM316	R6G	2	0.0587	216–219
RM19	FAM	2	0.0587	196–202
RM474	TAMRA	3	0.47	257–263

Для анализа генетических взаимосвязей изученной выборки сортов была выполнена кластеризация методом UPGMA и с использованием Байесовского анализа. Рассматривая результаты Байесовского анализа, представленные на рисунке 2, можно видеть, что при $K = 2$ сорта разделились на две основных группы: первая группа представлена в основном сортами восточной эколого-географической группы (ЭГГ), ко второй отнесены в большей степени сорта европейской ЭГГ (русские сорта) и среднеазиатского происхождения. Часть разных по происхождению сортов была отнесена с различной долей вероятности как к первому кластеру, так и ко второму кластеру, что указывает на их промежуточное положение. При увеличении значения числа кластеров до трех ($K = 3$) все сорта, отнесенные к первому кластеру при $K = 2$, остаются объединенными в один кластер. Сорта европейской и среднеазиатской

ЭГГ разделяются на два кластера. При этом большинство сортов среднеазиатского происхождения входят в третий кластер, а второй кластер в основном образован сортами европейского происхождения.

Объединение сортов по трем кластерам, установленное при $K = 3$, сохраняется и при $K = 4$. К вновь сформированному четвертому кластеру определены сорта, ранее занимавшие переходное положение между кластерами. Часть сортов восточной группы, отнесенных к кластеру 1, с различной долей достоверности (от 5 % до 38 %) отнесены к кластеру 4. В значениях $K = 5$ происходит разделение сортов восточного происхождения на два кластера: в одном преобладают сорта корейского происхождения, в другом – японского. Остальные кластеры соответствуют группам, выявленным при значении $K = 4$.

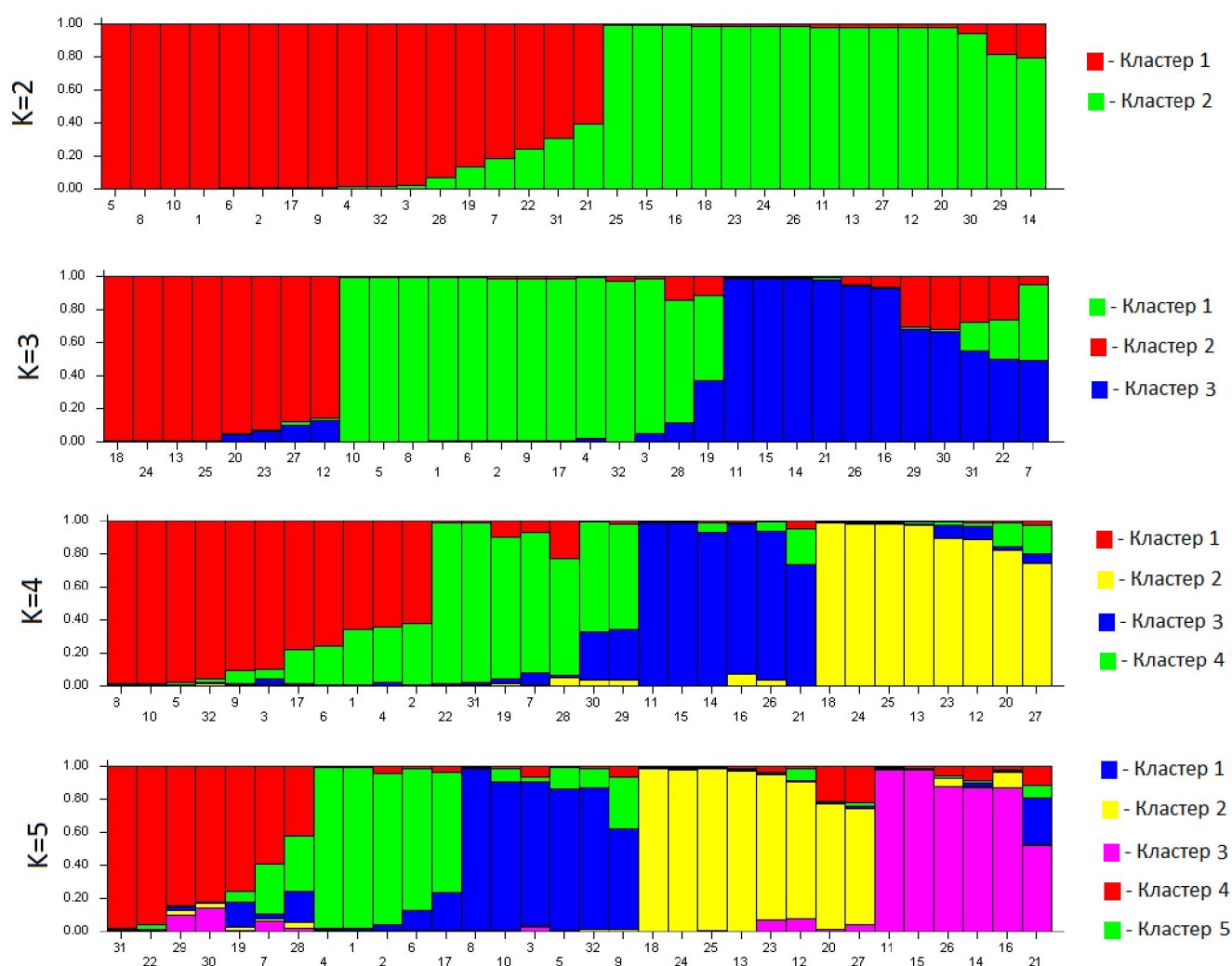


Рис. 2. Структура изучаемой выборки сортов риса по результатам Байесовского анализа

Примечание:

Корея (Восточная ЭГГ): 1 – Odaebueo; 2 – Jibu; 3 – Undong 5; 4 – Geumobueo; Япония (Восточная ЭГГ): 5 – Kuro-mochi; 6 – Kanto 51; 7 – Ischikari; 8 – Aichi Asachi; 9 – Igisakau; Россия Приморье (Восточная ЭГГ): 10 – Китайский; 11 – Уссур; 12 – Приморский 29; Узбекистан (Среднеазиатская ЭГГ): 13 – Талмас 2; Казахстан (Среднеазиатская ЭГГ): 14 – Арал 22; 15 – Крос 358; 16 – Баканасский; 17 – Баракат; Россия (Европейская ЭГГ) (селекция ВНИИРиса): 18 – Фаворит; 19 – Диамант; 20 – Анаит; 21 – Кулон; 22 – Лиман; 23 – Олимп; 24 – Регул; 25 – Янтарь; 26 – Дружный; 27 – Ренар; 28 – Полевик; 29 – Славянец; 30 – Вираж (селекция ВНИИЗК); 31 – Старт; 32 – Соната.

Fig. 2. Bar plot of Bayesian analysis results (K = 2, 3, 4, 5) for the studied rice varieties

Note:

Korea (Eastern EGG): 1 – Odaebueo; 2 – Jibu; 3 – Undong 5; 4 – Geumobueo; Japan (Eastern EGG): 5 – Kuro-mochi; 6 – Kanto 51; 7 – Ischikari; 8 – Aichi Asachi; 9 – Igisakau; Russia Primorye (Eastern EGG): 10 – Kitajsky; 11 – Ussur; 12 – Primorskij 29; Uzbekistan (Central Asian EGG): 13 – Talmas 2; Kazakhstan (Central Asian EGG): 14 – Aral 22; 15 – Cross 358; 16 – Bakanassky; 17 – Barakat; Russia (European EGG) (breeding of ARRI): 18 – Favorit; 19 – Diamond; 20 – Anait; 21 – Kulon; 22 – Liman; 23 – Olimp; 24 – Regul; 25 – Jantar; 26 – Druzhny; 27 – Renar; 28 – Polevik; 29 – Slavyanets; 30 – Virazh (breeding of VNIIZK); 31 – Start; 32 – Sonata.

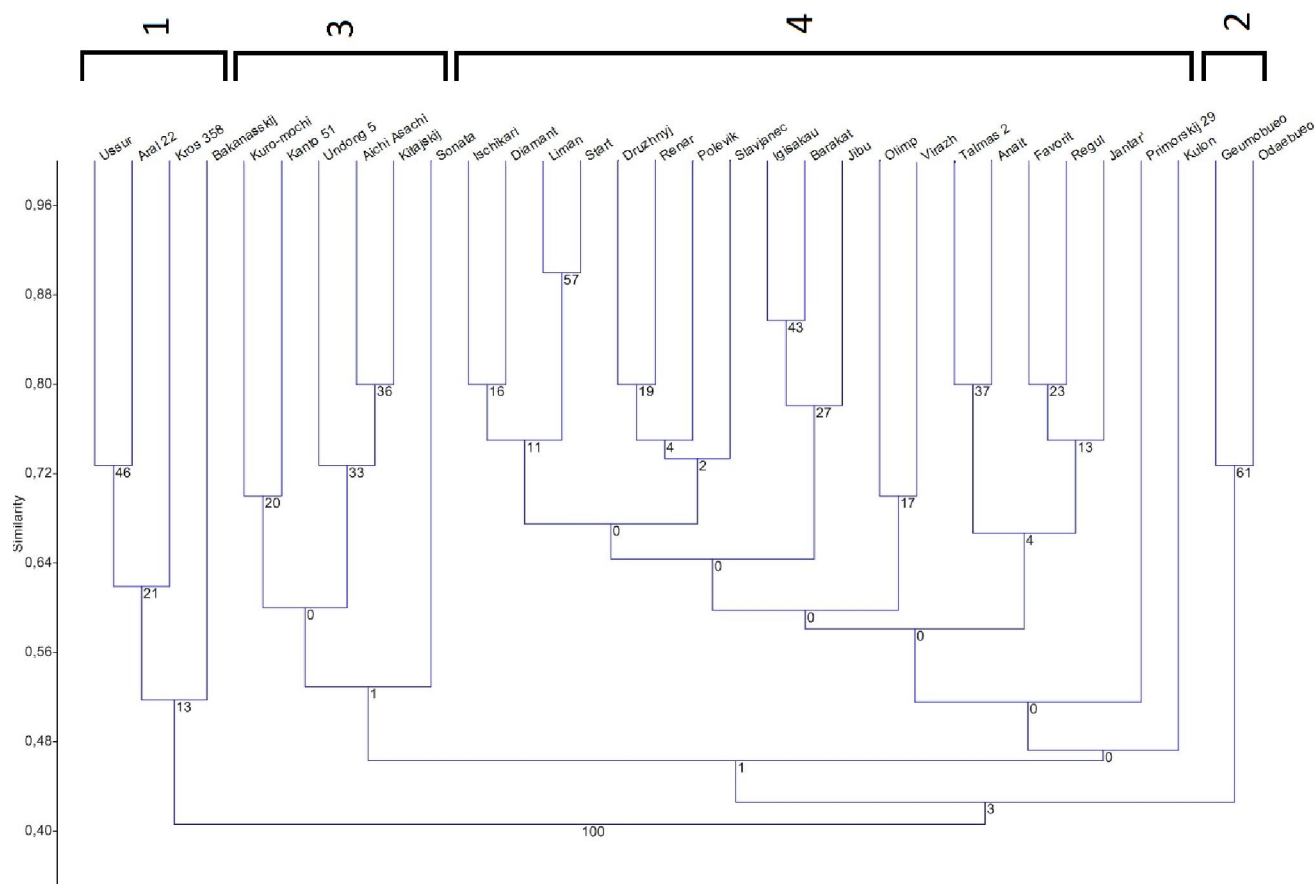


Рис. 3. Дендрограмма генетического сходства сортов риса, построенная с использованием алгоритма UPGMA

Fig. 3. UPGMA dendrogram of genetic similarity between rice cultivars

Кластеризация методом UPGMA позволяет рассмотреть процесс группировки сортов под одним углом (рис. 3).

На UPGMA-дендрограмме можно выделить 4 кластера. Первый кластер включает 3 сорта среднеазиатской эколого-географической группы и один сорт, относящийся к восточной эколого-географической группе (Уссур). Второй установленный кластер представлен корейскими сортами: Одаебуро и Геумобуро. Третий кластер состоит из пяти сортов восточной эколого-географической группы (три японских сорта – Kanto 51, Kuro-Mochi и Aichi Asachi, корейский сорт Undong 5 и российский сорт из Приморского края – Китайский) и одного сорта селекции ВНИИ риса – Соната. Отнесение сорта Соната к данному кластеру может быть обусловлено тем, что данный солеустойчивый сорт был создан с участием донора солеустойчивости – сорта Поккали, относящегося к южно-азиатской эколого-географической группе, которая генетически более близка восточной ЭГГ, нежели к европейской. Четвертый кластер, хоть и включает представителей трех вышеперечисленных эколого-географических групп, в основном сформирован сортами селекции ВНИИ риса, входящих в европейскую ЭГГ.

Обсуждение

Сравнивая уровень полиморфизма маркеров, полученный по результатам нашего исследования, с результатами анализа геноплазмы риса из различных регионов рисосеяния, можно сказать о сопоставимом уровне полиморфизма. Так, к примеру, в работе М. Рави с соавторами, при изучении генетического разнообразия выборки генотипов, включающей 45 представителей генофонда Индии, Филиппин, Шри-Ланки, идентифицировали среднее значение $PIC = 0,578$. Необходимо отметить, что в изучаемую выборку наряду с сортами вошли и пять видовых образцов (*Oryza nivara* S.D. Sharma & Shastri и *Oryza rufipogon* L.) (Ravi et al., 2003). При изучении генетических взаимосвязей автохтонных культурных форм, сортов современной селекции и дикорастущих форм риса из Индии в выборке из 35 генотипов среднее количество аллелей на локус было 4,86 при среднем значении показателя PIC 0,707, что может быть следствием более равномерного распределения частот аллелей маркеров (Ram et al., 2007). Относительно SSR-маркеров, у которых был выявлен минимальный уровень полиморфизма,

можно предположить, что данный факт может быть следствием того, что в работе были задействованы сорта только из трех эколого-географических зон. При этом не представлены сорта подвита *indica*, а также сорта из Южной и Юго-Восточной Азии — регионов, относящихся к областям происхождения данной культуры и отличающихся высоким разнообразием генофонда рода *Oryza* (Lyakhovkin, 2005).

Исходя из данных Байесовского анализа, можно утверждать, что удаленное географическое происхождение европейских сортов и дальневосточных сортов риса соответствует и их генетической удаленности. При этом среднеазиатские сорта проявляют генетическое родство с европейскими сортами. Тем не менее, несмотря на родство среднеазиатских и европейских форм, при более детальной кластеризации они обособляются друг от друга. В свою очередь, восточноазиатские сорта также не представляют единого целого и при последующей кластеризации разделяются на две группы с преобладанием корейских или японских сортов. Стоит отметить, что кластеры не образованы только представителями той или иной ЭГГ и определяются по преобладающей в кластере группе. Также практически между всеми кластерами существуют сорта, занимающие переходное положение. Это служит доказательством генетического обмена между различными ЭГГ.

Видно, что результаты UPGMA демонстрируют несколько иную картину распределения сортов, отличную от полученной при проведении Байесовского анализа. Большинство сортов азиатского происхождения (восточная и среднеазиатская ЭГГ) образуют аутгруппы относительно сортов селекции ВНИИ риса, представленных четвертым кластером. В связи с этим, высокий уровень генетического родства среднеазиатских сортов риса с европейскими, полученный по результатам байесовского анализа при значении $K = 2$, представляется не столь однозначным. Скорее можно сделать вывод о более объективном разделении сортов при значении $K = 3$ и 4. Наличие сортов различного эколого-географического происхождения в четвертом кластере, куда вошла основная часть сортов отечественной селекции, может быть следствием вклада генофонда, относящегося к среднеазиатской и восточной ЭГГ в формирование российской генплазмы риса за счет их вовлечения в селекционный процесс.

Заключение

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать заключение о сложной генетической структуре изученной выборки образцов, что согласуется с наличием сортов из разных эколого-географических групп. При этом необходимо отметить присутствие сортов, занимающих переходное положение между эколого-географическими группами, что, очевидно, является следствием активного использования в селекции скрещивания сортов, относящихся

к разным ЭГГ. Отнесение отечественных сортов, которые, в соответствии с морфологическими характеристиками, относятся к европейской эколого-географической группе, к группе сортов, включающей также некоторые сорта из средней Азии и из восточной ЭГГ, является следствием использования в отечественной селекции сортов, принадлежащих к разным эколого-географическим группам.

References/Литература

- Choudhary G, Ranjithkumar N, Surapaneni M, Deborah DA, Vipparla A, Amuradha G, Siddiq A E, Reddy Vemireddy L (2013) Molecular Genetic Diversity of Major Indian Rice Cultivars over Decadal Periods. *PLoS ONE*; 8(6): e66197. DOI: 10.1371/journal.pone.0066197
- Das B, Sengupta S, Parida SK (2013) Genetic diversity and population structure of rice landraces from Eastern and North Eastern States of India. *BMC Genetics*; 14: 71.
- Gao L-Z, Zhang C-H (2005) Comparisons of microsatellite variability and population genetic structure of two endangered wild rice species, *Oryza rufipogon* and *O. officinalis*, and their conservation implications. *Biodiversity and Conservation*; 14: 1663–1679. DOI: 10.1007/s10531-004-0537-y
- Korotenko TL (2018) Perspective initial material of rice for breeding programs of the South of Russia (Perspektivnyy iskhodnyy material risa dlya selekcionnykh programm yuga Rossii). Nauchnoe obespechenie innovatsionnykh tekhnologiy proizvodstva i hraneniya sel'skohozyajstvennoy i pishchevoy produkcii: Sbornik materialov 1-oj Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii molodykh uchennykh i aspirantov. Krasnodar: FGBNU VNIITTI 9–23 aprelya — Scientific support of innovative technologies for the production and storage of agricultural and food products: Collection of materials of the 1st International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Postgraduates April 9–23 2018. Krasnodar: FGBNU VNIITTI [in Russian] (Коротенко Т. Л. Перспективный исходный материал риса для селекционных программ Юга России // «Научное обеспечение инновационных технологий производства и хранения сельскохозяйственной и пищевой продукции»: Сборник материалов 1-й Международной научно-практической конференции молодых ученых и аспирантов 9–23 апреля 2018. Краснодар: ФГБНУ ВНИИТТИ, 2018. С. 40–49).
- Lyakhovkin AG (2005) Rice. World production and gene pool (Ris. Mirovoe proizvodstvo i genofond). 2-e izd. SPb.: «PROFI-INFORM» 2nd ed. SPb.: «PROFI-INFORM»: 288 [in Russian] (Ляховкин А. Г. Рис. Мировое производство и генофонд. 2-е изд. СПб.: ПРОФИ-ИНФОРМ», 2005. 288 с.).
- McCouch SR, Chen X, Panaud O, Temnykh S, Xu Y, Cho YG, Huang N, Ishii T, Blair (1997) Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. *Plant Mol. Biol.*; 35: 89–99.
- McCouch SR, Temnykh S, Lukashova A, Coburn J, DeClerck G, Cartinhour S, Harrington S, Thomson M, Septiningsih E, Semon M, Moncada P, Jiming Li (2008) Microsatellite markers in rice: abundance, diversity, and applications. *Rice Genetics Collection*; 4: 117–135 DOI: 10.1142/9789812814296_0008
- Moumeni A, Bahman YS, Wu J, Leung H (2003) Genetic diversity and relatedness of selected Iranian rice cultivars and disease resistance donors assayed by simple sequence repeats and candidate defense gene markers. *Euphytica*; 131: 275–284.
- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*; 10: 4321–4325.
- Rahman MS, Sohag MKH, Rahman L (2010) Microsatellite based DNA fingerprinting of 28 local rice (*Oryza sativa* L.) varieties of Bangladesh. *Bangladesh Agril. Univ.*; 8(1): 7–17. DOI: 10.3329/jbau.v8i1.6391
- Ram SG, Thiruvengadam V, Ram SG, Vinod K (2007) Genetic diversity among cultivars, landraces and wild relatives of rice as revealed by microsatellite markers. *Journal of Applied Genetics*; 48(4): 337–345.
- Ravi M, Geethanjali S, Sameeyafarheen F, Maheswaran M (2003)

- Bangladesh Agril Molecular Marker based Genetic Diversity Analysis in Rice (*Oryza sativa* L.) using RAPD and SSR markers. *Euphytica*, 133: 243–252. DOI: 10.1023/A:1025513111279
- Siwach P, Jain S, Sahni N, Chowdhury VK, Jain RK (2003) Allelic diversity among basmati and non-basmati long-grain indica rice varieties using microsatellite markers. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 13: 25–32.
- Suprun II, Kovalev VS (2015) Testing multiplex SSR analysis for DNA certification of rice varieties (Aprobaciya mul'tipleksnogo SSR-analiza dlya DNK-pasportizacii sortov risa). *Politematicheskij setevoj ehlektronnyj nauchnyj zhurnal KubGAU — Scientific Journal of KubSAU*; 10(114): 1417–1427 [in Russian] (Супрун И. И., Ковалев В. С. Апробация мультиплексного SSR-анализа для ДНК-паспортизации сортов риса // Политематический сетевой электронный научный журнал КубГАУ [Электронный ресурс]. Краснодар: КубГАУ. 2015. № 10(114). С. 1417–1427).
- Thomson MJ, Septiningsih EM, Suwardjo F, Santoso TJ, Silitonga TS, McCouch SR (2007) Genetic diversity analysis of traditional and improved Indonesian rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using microsatellite markers. *Theor. Appl. Genet.*; 114: 559–568. DOI: 10.1007/s00122-006-0457-1
- Weiguo Z, Jong-Wook C, Ma K-H, Kim T-S, Kim S-M, Shin D-I, Kim C-H, Koo H-M, Park Y-J (2009) Analysis of Genetic Diversity and Population Structure of Rice Cultivars from Korea, China and Japan using SSR Markers. *Genes and Genomics*; 31(4): 283–292. DOI: 10.1007/BF03191201
- Yelome OI, Audenaert K, Landschoot S, Dansi A, Vanhove W, Silue D, Damme PV, Haesaert G (2018) Analysis of population structure and genetic diversity reveals gene flow and geographic patterns in cultivated rice (*O. sativa* and *O. glaberrima*) in West Africa. *Euphytica*, 214: 21. DOI: 10.1007/s10681-018-2285-1