

Д.Н. МАЙДАНЮК, И.О. АНДРЕЕВ, В.А. КУНАХ

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины,  
Киев, 03143, ул. Академика Заболотного, 150  
E-mail: kunakh@imbg.org.ua

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛИНИЙ КУКУРУЗЫ ВИР-27 И ЧК-218 С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ SSR- И RAPD-МАРКЕРОВ



*Линия ЧК-218 получена путем экспериментального мутагенеза, а именно обработкой семян линии ВИР-27 стрептомицином. Ранее показаны значительные отличия между упомянутыми линиями по размерам и количеству гетерохроматиновых районов в разных парах хромосом. В настоящей работе проведен сравнительный молекулярно-генетический анализ геномов линий ВИР-27 и ЧК-218 при помощи SSR- и RAPD-ПЦР. Степень полиморфизма составила 26,9 % для SSR-аллелей и 21,7 % для RAPD-ампиконов. Обнаруженные отличия свидетельствуют о том, что обработка семян кукурузы стрептомицином оказывает заметное мутагенное воздействие, при этом наряду со структурой хромосом изменяется и последовательность ДНК.*

© Д.Н. МАЙДАНЮК, И.О. АНДРЕЕВ, В.А. КУНАХ, 2007

**Введение.** Кукуруза — одна из наиболее распространенных культур в мировом земледелии. Среди возделываемых растений она занимает первое место по валовым сборам зерна и второе по посевным площадям. Вегетативная масса кукурузы является ценным кормом в животноводстве, а ее зерно широко используется для продовольственных целей и в качестве сырья для промышленности. Подсчитано, что из кукурузы получают более 500 основных и побочных продуктов [1]. В то же время дальнейшее улучшение кукурузы путем традиционной селекции сдерживается ограниченным набором исходных форм для скрещивания. Одним из методов, позволяющих значительно расширить генетическое разнообразие форм кукурузы, является экспериментальный мутагенез [2, 3], при помощи которого, а именно путем обработки семян стрептомицином, из линии ВИР-27 была получена линия ЧК-218, обладающая более высокими агрономическими показателями по сравнению с исходной линией [4].

Проведенные ранее цитогенетические исследования показали, что линии ВИР-27 и ЧК-218 отличаются друг от друга по размерам и количеству гетерохроматиновых районов [5]. Принимая во внимание эти данные, указывающие на возможные структурные перестройки генома исходной линии ВИР-27 под действием стрептомицина, мы предприняли попытку изучения изменений в геноме на уровне последовательностей ДНК, поскольку использованные в предшествующем исследовании [5] методические подходы не позволяли однозначно судить об их наличии. Целью настоящей работы являлся сравнительный молекулярно-генетический анализ указанных линий посредством SSR- и RAPD-ПЦР, который позволил бы выявить результат мутагенного воздействия стрептомицина на геном кукурузы при получении линии ЧК-218.

**Материалы и методы.** В работе были использованы интактные растения чистых линий ВИР-27 и ЧК-218, полученные из коллекций Института физиологии растений и генетики НАН Украины (Киев) и Селекционно-генетического института УААН (Одесса). ДНК выделяли по модифицированной методике [6]. Концентрацию и качество препаратов ДНК оценивали визуально по интенсивности свечения комплексов бромистого этидия с ДНК в ультрафиолетовых лучах после электрофоре-

за в 1,5 %-ном агарозном геле относительно контроля с известной концентрацией (ДНК бактериофага  $\lambda$ ).

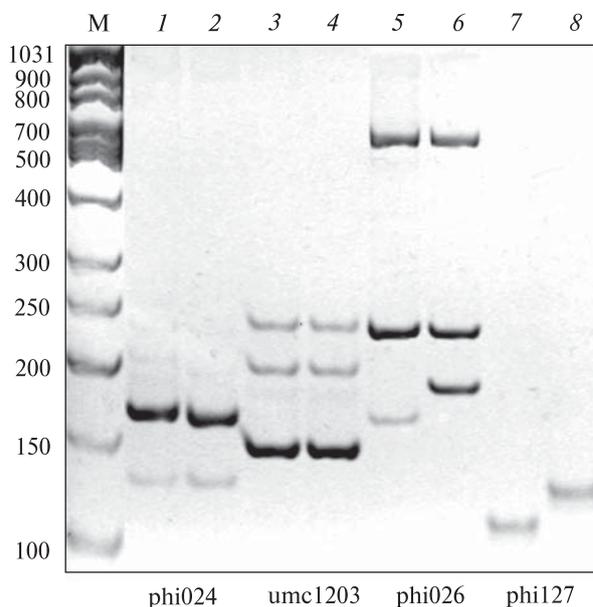
Чтобы ослабить возможный вклад внутрилинейной гетерогенности при сравнении геномов изучаемых линий кукурузы, во время проведения ПЦР использовали смесь ДНК, полученную из 10 индивидуальных растений ВИР-27 и 7 – ЧК-218. Такой размер выборки был обусловлен ограниченностью материала, представленного для исследований. Реакционная смесь для SSR- и RAPD-ПЦР объемом 20 мкл содержала 1×ПЦР-буфер с 2 мМ  $MgCl_2$  («Медбиосервис», Киев), 0,2 мМ каждого dNTP, 1 ед. *Taq*-полимеразы («Амплиценс», Москва), 0,25 мкМ праймера («Литех», Москва), 20 нг анализируемой ДНК. На реакционную смесь наслаивали 20 мкл минерального масла. Амплификацию микросателлитных локусов проводили по программе: денатурация 94 °С/2 мин; 30 циклов: 94 °С/30 с, отжиг 55 °С/30 с, элонгация 72 °С/30 с; элонгация 72 °С/2 мин. Для проведения RAPD-ПЦР использовали программу: денатурация 94 °С/2 мин; 5 циклов: денатурация 94 °С/30 с, отжиг 38 °С/30 с, элонгация 72 °С/1 мин; 35 циклов: денатурация 94 °С/20 с, отжиг 38 °С/20 с, элонгация 72 °С/40 с; элонгация 72 °С/2,5 мин. Продукты амплификации SSR разделяли в 10%-ном акриламидном геле, RAPD – в 2%-ном агарозном геле с бромистым этидием в 1 × TBE-буфере при напряженности электрического поля 2 В/см [7]. Реакцию с каждым праймером повторяли дважды.

Размеры продуктов ПЦР определяли при помощи программы TotalLab v. 2.01 (Nonlinear Dynamics). Количество гомологичных полиморфным праймерам участков внутри последовательностей центромеры и хроматических узлов определяли при помощи программы FastPCR v. 4.0 [8].

**Результаты исследований и их обсуждение.** Для анализа микросателлитных участков (simple sequence repeats – SSR) использовано 15 SSR, расположенных на 8 из 10 хромосом кукурузы (табл. 1). Последовательности использованных праймеров и характеристики проанализированных локусов приведены на сайте базы данных MaizeGDB [9]. На рис. 1 показаны выявленные аллели для четырех проанализированных

SSR-локусов. Размеры всех обнаруженных аллелей представлены в табл. 1. Количество аллелей на локус колебалось от 1 до 4. Полиморфизм между исследуемыми линиями выявлен по четырем локусам: *phi024*, *phi096*, *phi127*, *umc1726* (26,7 % анализируемых SSR-локусов). Отличия между линиями обнаружили у 7 из 26 выявленных аллелей (26,9 %). У обеих линий идентичны 2 из 3 аллелей локуса *phi096* и по одному аллелю локусов *umc1726* и *phi024*. У линии ЧК-218 по сравнению с ВИР-27 отсутствует аллель локуса *phi096* длиной 155 п.н. и имеется аллель длиной 172 п.н., в случае *phi024* наблюдается аллель 163 п.н. и отсутствует аллель 166 п.н., утрачен аллель локуса *umc1726* длиной 149 п.н. У обеих линий есть по одному аллелю локуса *phi127*, однако они отличаются по размеру: у линии ЧК-218 он на 9 п.н. длиннее, чем у ВИР-27 (табл. 1).

В дальнейшем мы провели сравнительный анализа геномов линий ВИР-27 и ЧК-218 методом полимеразной цепной реакции с использованием случайных десятинклеотидных праймеров (RAPD-ПЦР), которые ранее успешно применяли для изучения генетичес-



**Рис. 1.** Продукты амплификации четырех SSR-локусов линий кукурузы ВИР-27 и ЧК-218: М – маркер молекулярных масс (O'GeneRuler 50bp DNA Ladder, Fermentas), п.н.; нечетные дорожки – ВИР-27, четные – ЧК-218. Внизу указаны названия праймеров

кого полиморфизма кукурузы [10, 11]. Для RAPD-анализа использован 41 праймер (табл. 2). С двумя из них (А-03, А-13) устойчивой картины амплификации получить не удалось. С остальными праймерами были получены детектируемые продукты амплификации (ампликоны), количество которых варьировало от 1 до 10. Анализ полиморфизма осуществлялся по результатам, полученным с использованием 39 праймеров.

Типичная картина спектров продуктов ПЦР линий ВИР-27 и ЧК-218, полученных с

использованием девяти праймеров, представлена на рис. 2. Полиморфные фрагменты с указанием соответствующих праймеров обозначены стрелками. На рис. 2 можно видеть различные типы обнаруженных изменений. Так, в спектрах продуктов ПЦР линии ЧК-218, полученных при помощи праймера А-01, отсутствует ампликон размером ~1200 п.н. (дор. 2), А-04 — ~1220 и ~900 п.н. (дор. 8) и А-08 — ~730 п.н. и ~660 п.н. (дор. 14). Дополнительный фрагмент ~620 п.н. выявлен при помощи праймера А-07 (дор. 12). Утрата фрагмента

Таблица 1  
Выявленные аллели анализируемых микросателлитных локусов линий ВИР-27 и ЧК-218

SSR-локус	Хромосомная локализация	Последовательность фланкирующих SSR-локус праймеров (5'-3')	Выявленные аллели, п.н.	
			ВИР-27	ЧК-218
phi021	4.03	TTCCATTCTCGTGTCTTGGAGTGGTCCA CTTGATCACCTTTCCTGCTGTGCGCCA	112	112
phi024	5.01	ACTGTTCCACCAAACCAAGCCGAGA AGTAGGGGTTGGGGATCTCCTCC	166,131	163,131
phi027	9.03	CACAGCACGTTGCGGATTCTCT GCGTACGTACGACGAAGACAC	120,116	120,116
phi064	1.11	CCGAATTGAAATAGCTGCGAGAACCT ACAATGAACGGTGGTTATCAACACGC	118	118
phi065	9.03	AGGGACAAATACGTGGAGACACAG CGATCTGCACAAAGTGGAGTAGTC	142	142
phi071	10.04	GGAGTTCATCAGCTACCCCATCT TTCTGCTTGTGTGATCTGCACCCAC	102	102
phi074	4.04	CCCAATTGCAACAACAATCCTTGGCA GTGGCTCAGTGATGGCAGAAACT	182,118	182,118
phi096	4.04	TCCACCATTTGACACTTAGGCA GCGTAGGACGACCGTTGAA	603,214,155	603,214,172
phi115	8.03	CTCCGTGTTTCGCCTGAA ACCATCACCTGAATCCATCACA	150	150
phi116	7.06	GCATACGGCCATGGATGGGA TCCCTGCCGGGACTCCTG	212	212
phi127	2.08	ATATGCATTGCCTGGAAGTGAAGGA AATTCAAACACGCCTCCCGAGTGT	119	128
umc1172	8.04	CTCCTCCATCCAACACTGAACC ATGAAGCAGAGGCAGTCTTTCTTG	152	152
umc1203	10.04	ATGGCTGGAGAACCTAGTGTGTTG GCTTGTCTCCTCCAGCAGAAGTT	233,195,152	233,195,152
umc1569	10.07	GCAGCTCCAAGTACAGAGGTGAG CACTGCAGACACGTAATAATCCAAG	177	177
umc1726	1.10	GATGAGGAAGAAAAGGAAAAGGA AGACTCAACCCTAACCCCTAATGGG	149,128	128

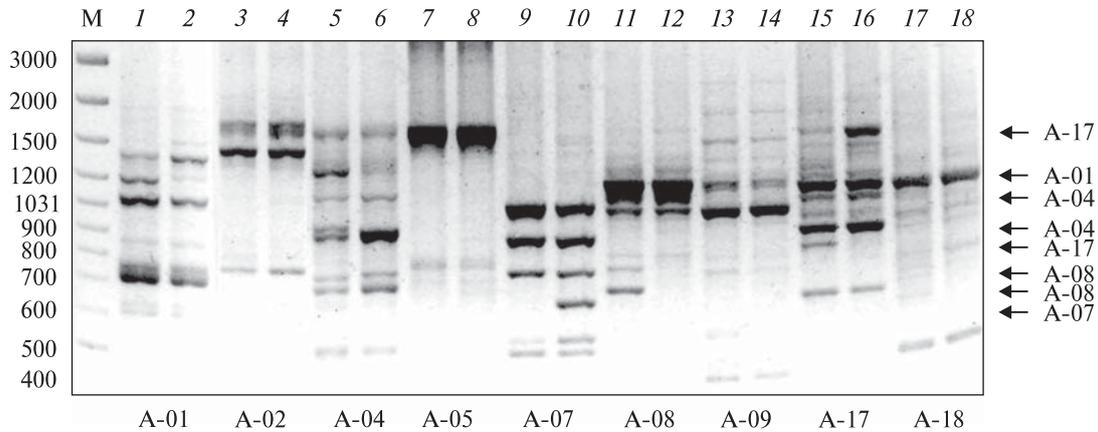
Таблица 2

ПраЙмеры, использованные для RAPD-анализа линий кукурузы ВІР-27 и ЧК-218

ПраЙмер	Последовательность нуклеотидов (5'–3')	Общее количество ампликонов в спектре линии		Характер полиморфизма ампликонов в спектре линии ЧК-218	
		ВІР-27	ЧК-218	Отсутствие ампликонов	Дополнительные ампликоны
A-01*	CAGGCCCTTC	8	7	1	0
A-02	TGCCGAGCTG	3	3	0	0
A-03	AGTCAGCCAC	—	—	—	—
A-04*	AATCGGGCTG	8	6	2	0
A-05	AGGGGTCTTG	1	1	0	0
A-07*	GAAACGGGTG	5	6	0	1
A-08*	GTGACGTAGG	5	3	2	0
A-09	GGGTAACGCC	5	5	0	0
A-10*	GTGATCGCAG	7	10	0	3
A-11	CAATCGCCGT	3	3	0	0
A-12	ATCGCACACT	2	2	0	0
A-13	CAGCACCCAC	—	—	—	—
A-14	TCTGTGCTGG	2	2	0	0
A-16*	AGCCAGCGAA	2	3	1	2
A-17*	GACCGCTTGT	5	5	1	1
A-18	AGGTGACCGT	2	2	0	0
A-19*	CAAACGTCGG	6	6	2	2
A-20	GTTGCGATCC	3	3	0	0
Ag-01*	AGGTCACTGA	6	7	1	2
AH-29*	TGGTGACTGA	7	8	0	1
AH-30	TGGTCACTGT	2	2	0	0
B-01	GTTTCGCTCC	3	3	0	0
B-02*	TGATCCCTGG	5	4	1	0
B-03	CATCCCCCTG	1	1	0	0
B-04*	GGACTGGAGT	3	3	1	1
B-05	TGCGCCCTTC	3	3	0	0
B-06*	TGCTCTGCCC	7	5	2	0
B-07*	GGTGACGCAG	4	3	1	0
B-08*	GTCCACACGG	7	8	0	1
B-10	CTGCTGGGAC	3	3	0	0
B-18*	CCACAGCAGT	4	5	0	1
G-01*	CCTGTTAGCC	6	6	1	1
M-06*	CTGGGCAACT	5	5	2	2
M-07	CCGTGACTCA	7	7	0	0
M-14*	AGGGTCGTTC	3	4	0	1
OPA-02	TGCCGAGCTG	7	7	0	0
QR-01*	CGGTCACTGT	6	5	2	1
QR-05	CGGCCCCGGC	5	5	0	0
340	GAGAGGCACC	3	3	0	0
450	CGGAGAGCCC	2	2	0	0
474	AGGCGGGAAC	3	3	0	0
Всего		164	164	20	20

Примечание. С праЙмерами A-03 и A-13 устойчивой картины амплификации получить не удалось.

\* ПраЙмеры, выявившие полиморфизм в спектре ампликонов линий ВІР-27 и ЧК-218.



**Рис. 2.** Спектры RAPD-фрагментов линий кукурузы ВІР-27 и ЧК-218 с десятью праймерами: М – маркер молекулярных масс (O’GeneRuler 100bp DNA Ladder Plus, Fermentas), п.н.; нечетные дорожки – ВІР-27, четные – ЧК-218. Внизу указаны названия праймеров. Стрелками обозначены полиморфные фрагменты с указанием использованных праймеров

~820 п.н одновременно с появлением дополнительного ампликона ~1650 п.н. детектирована праймером А-17 (дор. 18).

Полиморфизм между линиями ВІР-27 и ЧК-218 по спектру фрагментов выявили 20 праймеров из 39 (51,3 %). Всего в полученных спектрах фрагментов ПЦР обеих линий было учтено по 164 ампликона. При этом у линии ЧК-218 по сравнению с ВІР-27 отсутствовало 20 ампликонов, однако имелось 20 дополнительных ампликонов, отсутствующих в спектрах линии ВІР-27 (табл. 2). Общее количество продуктов амплификации для двух линий составило 184, из них 40 (21,7 %) были полиморфными. Шесть праймеров выявили полиморфизм в виде исчезновения фрагментов (А-01, А-04, А-08, В-02, В-06, В-07), еще шесть – в виде появления ампликонов (А-07, А-10, АН-29, В-08, В-18, М-14). При помощи 8 праймеров в спектрах фрагментов линии ЧК-218 детектировали как утрату, так и появление ампликонов (А-16, А-17, А-19, Аг-01, В-04, G-01, М-06, QR-01). В целом выявленные на молекулярном уровне отличия между исходной линией ВІР-27 и полученной из нее обработкой семян стрептомицином линией ЧК-218 свидетельствуют о мутагенном воздействии этого антибиотика.

Для определения возможной взаимосвязи обнаруженного полиморфизма на молекулярном уровне и описанными ранее цитогенетическими отличиями по размерам и количеству гетерохроматиновых районов [5] между линия-

ми ВІР-27 и ЧК-218 был проведен поиск участков, гомологичных выявившим полиморфизм праймерам, в ряде гетерохроматин-специфических последовательностей кукурузы базы данных GenBank [12]. Анализировали центроммер-специфические последовательности MCS1a (Y08023, 404 п.н.), MCS1b (Y08024, 559 п.н.), ZM16H10 (AC116034; 34079 п.н.), ZM15C05 (AC116033; 99606 п.н.), а также последовательности 180-bp (M32533, 180 п.н.) и TR-1 (AF071124, 358 п.н.), специфические для хроматических узлов [13, 14]. Принимая во внимание возможный полиморфизм геномных последовательностей и относительно низкую температуру отжига в RAPD-ПЦР, проводили поиск последовательностей со степенью гомологии использованным праймерам 80–100 %. Внутри последовательностей 180-bp и TR-1 гомологичных участков выявлено не было. В MCS1a обнаружено по одной гомологичной последовательности для праймеров А-19 и М-14. В MCS1b также найдено по одному участку с высокой гомологией к праймерам А-01 и А-19. Наибольшее количество гомологичных участков обнаружено в последовательностях ZM16H10 и ZM15C05 (табл. 3). Внутри ZM16H10 гомологичные участки обнаружены для большинства выявивших полиморфизм праймеров за исключением А-04, А-19, Аг-01, В-02, QR-1. Количество таких участков варьировало для разных праймеров от 1 до 25. В последовательности ZM15C05 выявлены го-

мологичные участки для всех полиморфных праймеров. Количество гомологичных участков составило от 4 до 62. Таким образом, для всех праймеров, выявивших полиморфизм в спектре ампликонов линий ВІР-27 и ЧК-218, обнаружено значительное количество гомологичных участков внутри последовательностей, локализованных в центромерных районах хромосом кукурузы.

Проведенные нами исследования свидетельствуют о наличии перестроек в геноме кукурузы линии ЧК-218, полученной путем экспериментального мутагенеза из линии ВІР-27 в результате обработки семян стрептомицином. Обращает на себя внимание, что степень полиморфизма SSR- и RAPD-маркеров оказалась приблизительно одинаковой: 26,9 % SSR-аллелей и 21,7 % RAPD-ампликонов соответственно. Это может свидетельствовать о том, что мутагенное воздействие обработки семян стрептомицином примерно в равной степени затрагивает различные участки генома.

Следует отметить, что значительная часть пранализированных SSR-локусов (6 из 15, 40 %) имеют более одного аллеля в геноме каждой линии (табл. 1). Это могло быть обусловлено гетерогенностью исходного материала, поскольку для анализа использовали смесь ДНК нескольких растений. При этом локусы, имеющие более одного аллеля, как правило, представлены в геномах линий ВІР-27 и ЧК-218 аналогичными аллелями (за исключением локуса *umc1726*), что свидетельствует об их близком родстве. Наличие нескольких аллелей для одного SSR-локуса описано в одной из работ, также посвященной исследованию генетического полиморфизма кукурузы методом SSR-анализа [15]. Полученные результаты авторы объясняют остаточной гетерозиготностью, загрязнением или дубликацией анализируемых последовательностей.

Нам известна только одна работа, авторы которой решали задачу, аналогичную нашей. Болгарские ученые при помощи SSR-ПЦР изучали перестройки микросателлитных участков геномов 12 мутантных линий кукурузы, полученных при помощи химического мутагенеза из линий Oh43, Oh40b, C103, B37, PHG29 и гибрида Pioneer 3737 [16]. При сравнении исходных и полученных из них мутантных ли-

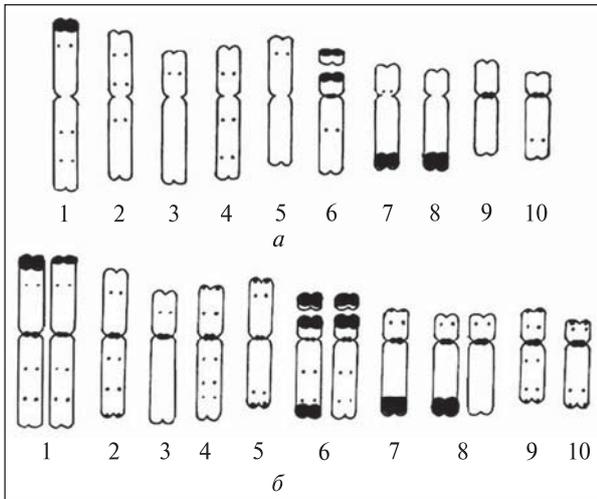
ний было показано, что большинство из использованных 18 SSR-маркеров характеризуются значительным полиморфизмом. Так, у исходных линий выявлено 62 аллеля анализируемых SSR, а у мутантных линий — 84.

В то же время наши данные свидетельствуют о менее значительных перестройках микросателлитных локусов кукурузы при получении линии ЧК-218. Возможно, это объясняется тем, что в работе [16] анализировали мутантные линии, полученные при помощи более сильных химических мутагенов, чем антибиотик стрептомицин. Вместе с тем разница в полученных результатах может отражать особенности локализации изученных микросателлитов в геноме. При сравнении SSR-локусов, использованных в исследовании болгарских ученых и

Таблица 3  
Количество участков, гомологичных праймерам в последовательностях ZM16H10 и ZM15C05 центромеры кукурузы

Праймер	Количество участков, гомологичных праймерам	
	ZM16H10 (AC116034; 34079 п.н.)	ZM15C05 (AC116033; 99606 п.н.)
A-01	1	19
A-04	—	9
A-07	24	60
A-08	25	62
A-10	3	4
A-16	2	20
A-17	6	9
A-19	—	5
Ag-01	—	21
АН-29	3	13
B-02	—	15
B-04	1	12
B-06	2	22
B-07	4	20
B-08	3	14
B-18	10	11
G-01	6	11
M-06	4	17
M-14	4	19
QR-01	—	13

Примечание. Представлены праймеры, выявившие полиморфизм в спектре ампликонов линий кукурузы ВІР-27 и ЧК-218. Выявленные участки гомологичны праймерам на 80–100 %.



**Рис. 3.** Идиограммы кариотипов линий кукурузы ВІР-27 (а) и ЧК-218 (б): 1–10 – номера хромосом. Гетерохроматиновые районы обозначены черным цветом (по [4])

изученных в настоящей работе, при помощи базы данных MaizeGDB [9] было обнаружено, что большинство локусов, проанализированных нами, расположены в структурных генах (за исключением *phi116* и *phi127*), тогда как 16 из 18 использованных в работе [16] SSR-локусов расположены в некодирующей части генома. Перестройки в SSR-локусах, входящих в состав структурных генов, могут негативно влиять на жизнеспособность растения и будут отсеиваться в ходе естественного отбора. В то же время изменения в SSR, расположенных в некодирующих участках генома, по-видимому, нейтральны для растения и могут сохраняться.

Ранее при помощи С-бэндинга в нашей лаборатории показали значительные отличия между линиями ВІР-27 и ЧК-218 по количеству и размерам гетерохроматиновых блоков (рис. 3). Так, в линии ЧК-218 наблюдали гетероморфизм хромосом 1, 6, 8 по количеству гетерохроматина, у всех хромосом имелся прицентромерный гетерохроматин (у ВІР-27 только у хромосом 9 и 10), наблюдалось увеличение размеров некоторых гетерохроматиновых районов и появление интеркалярных блоков гетерохроматина в отдельных хромосомах [5]. С-бэндинг представляет собой метод дифференциального окрашивания хромо-

сом, позволяющий выявить участки конститутивного гетерохроматина. Выявляемые упомянутым методом гетерохроматиновые С-бэнды у кукурузы являются митотическими аналогами хроматических узлов (*knobs*) – вздутий на хромосомах в пахитене мейоза [17]. Пикок и др. [18] обнаружили, что у кукурузы участки узлов состоят из многочисленных копий повтора длиной 180 п.н. (180-bp). Позднее Ананьев и др. [14], используя овсяно-кукурузные замещенные линии, выявили в составе этих участков хромосом еще один класс повторов длиной в 350 п.н., получивший название TR-1. Авторы показали, что районы узлов состоят из тандемных повторов 180-bp и TR-1, перемежающихся вставками нескольких типов ретротранспозонов и повторов.

Нами, однако, не выявлено гомологичных использованным в настоящей работе RAPD-праймам участков в последовательностях хроматических узлов (180-bp и TR-1). Поэтому наши данные не позволяют говорить о возможных изменениях последовательностей, сформированных указанными типами повторов. В то же время для всех полиморфных ампликонов выявлено большое количество гомологичных участков (от 1 до 62) внутри последовательностей ZM16H10 и ZM15C05, которые представляют собой участки центромер кукурузы и содержат центромер-специфический повтор CentC [13], а также ряд специфических и неспецифических для района центромер ретротранспозонов [19]. Это, на наш взгляд, свидетельствует о том, что часть выявленных RAPD-анализом отличий между линиями ВІР-27 и ЧК-218 может быть связана с изменениями прицентромерного гетерохроматина хромосом линии ЧК-218, обнаруженными методом С-бэндинга [5].

**Выводы.** Сравнительный молекулярно-генетический анализ линий кукурузы ВІР-27 и полученной из нее путем обработки семян стрептомицином линии ЧК-218 обнаружил отличия по SSR- и RAPD-маркерам, уровень которых составил соответственно 26,9 и 21,7%. Обнаруженные отличия свидетельствуют о том, что обработка семян кукурузы стрептомицином оказывает заметное мутагенное воздействие, при этом наряду со структурой хромосом изменяется и последовательность ДНК.

Авторы благодарят д-ра биол. наук Е.А. Ларченко (ИФРиГ НАНУ) за любезно предоставленные семена линии ЧК-218. Авторы также высказывают искреннюю благодарность академику УААН Ю.М. Сиволапу и канд. биол. наук Н.Э. Кожуховой (ЮБЦ УААН и МОНУ) за любезно предоставленные семена линии ВИР-27 и праймеры к микросателлитным локусам кукурузы.

**SUMMARY.** The maize line ChK-218 was created as a result of mutagenic treatment of the seeds of the line VIR-27 with streptomycin. Significant differences among these lines according to the size and number of heterochromatic regions in the various chromosome pairs have been demonstrated earlier. This paper provides comparative analysis of genomes of the VIR-27 and ChK-218 lines with SSR- and RAPD-PCR. The level of polymorphism extent reached 26,9 % in the case of SSR-alleles and 21,7 % in the case of RAPD-amplicons. The detected differences suggest that treatment of maize seeds with streptomycin makes considerable mutagenic effect which involves both structural chromosome changes and DNA sequence alterations.

**РЕЗЮМЕ.** Лінія ЧК-218 отримана шляхом експериментального мутагенезу, а саме обробкою насіння лінії ВИР-27 стрептоміцином. Раніше виявлено значні відмінності між даними лініями за розмірами і кількістю гетерохроматинових районів у різних парах хромосом. У цій роботі проведено порівняльний аналіз геномів ліній ВИР-27 і ЧК-218 за допомогою SSR- і RAPD-ПЛР. Ступінь поліморфізму склав 26,9 % для SSR-аллелів і 21,7 % для RAPD-ампліконів. Виявлені відмінності свідчать про те, що обробка насіння кукурудзи стрептоміцином має помітний мутагенний вплив, при цьому поряд із структурою хромосом змінюється і послідовність ДНК.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dowsell C.R. Maize in the World Economy. – New York : Westview Press Inc., 1996. – 288 p.
2. Экспериментальные мутации у кукурузы / Под ред. П.К. Шкварникова. – К.: Наук. думка, 1973. – 154 с.
3. Chopra V.L. Mutagenesis : Investigating the process and processing the outcome for crop improvement // Curr. Sci. – 2005. – 89. – P. 353–359.
4. Борейко В.С. Индуцированные мутации у инбредных линий кукурузы при помощи химических мутагенов : Дис. ... канд. биол. наук. – К., 1978. – 190 с.
5. Gubar E.K., Kunakh V.A. C-banding in *Zea mays* // Biotechnology in Agriculture and Forestry, V. 25. Maize. – Berlin, Heidelberg: Springer, 1994. – P. 366–381.
6. Rogers S.O., Bendich A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of field plant tissues // Plant Mol. Biol. – 1985. – 5. – P. 69–76.
7. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Дж. Методы генетической инженерии. Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1984. – 480 с.
8. Kalendar R. 2006. Fast PCR, v. 4.0, <http://www.biocenter.helsinki.fi/bi/Programs/fastpcr.htm>
9. <http://www.maizegdb.org/cgi-bin/ssrreports.cgi?id=2>
10. Осипова Е.С., Ковеза О.В., Троицкий А.В., Долгих Ю.И., Шамина З.Б., Гостимский С.А. Выявление специфических фрагментов у соматоклонов кукурузы и создание на их основе SCAR-маркеров // Генетика. – 2003. – 39, № 12. – С. 1664–1672.
11. Майданюк Д.Н., Андреев И.О., Спиридонова Е.В., Чеченева Т.Н., Кунах В.А. Геномная изменчивость линии кукурузы Black Mexican Sweet Corn C456 в культуре *in vitro*: результаты RAPD-анализа // Вісн. Укр. т-ва генетиків і селекціонерів. – 2006. – 4, № 1. – С. 58–67.
12. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html>
13. Ananiev E.V., Phillips R.L., Rines H.W. Chromosome-specific molecular organization of maize (*Zea mays* L.) centromeric regions // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1998. – 95. – P. 13073–13078.
14. Ananiev E.V., Phillips R.L., Rines H.W. Complex structure of knob DNA on maize chromosome 9. Retrotransposon invasion into heterochromatin // Genetics. – 1998. – 149. – P. 2025–2037.
15. Senior M.L., Murphy J.P., Goodman M.M., Stuber C.W. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system // Crop Sci. – 1998. – 38. – P. 1088–1098.
16. Kostova A., Todorovska E., Christov N., Hristov K., Atanassov A. Assessment of genetic variability induced by chemical mutagenesis in elite maize germplasm via SSR markers // J. Crop Improv. – 2006. – 16. – P. 37–48.
17. Aguar-Perecin M.L. R., Vosa C.G. C-banding in maize. 2. Identification of somatic chromosomes // Heredity. – 1985. – 54. – P. 37–42.
18. Peacock W.J., Dennis E.S., Rhoades M.M., Pryor A.J. Highly repeated DNA sequence limited to knob heterochromatin in maize // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1981. – 78. – P. 4490–4494.
19. Nagaki K., Song J., Stupar R.M., Parokony A.S., Yuan Q., Ouyang S., Liu J., Hsiao J., Jones K.M., Dawe R.K., Buell C.R., Jiang J. Molecular and cytological analysis of large tracks of centromeric DNA reveal the structure and evolutionary dynamics of maize centromeres // Genetics. – 2003. – 163. – P. 759–770.

Поступила 07.09.06