

## Генетический полиморфизм, динамика популяций

УДК 635.649:631.522/.524:577.2

### AFLP-АНАЛИЗ СОРТОВОГО ПОЛИМОРФИЗМА *Capsicum annuum* L.\*

Е.А. СНИГИРЬ<sup>1, 2</sup>, О.Н. ПЫШНАЯ<sup>1</sup>, Е.З. КОЧИЕВА<sup>2</sup>, Н.Н. РЫЖОВА<sup>2</sup>

AFLP-систему мультилокусного маркирования использовали для оценки потенциала генетического разнообразия у 45 сортов перца овощного *Capsicum annuum* L. В результате отобрано 8 праймерных комбинаций, наиболее информативных для маркирования генома перца. С их помощью для каждого сорта получены специфичные ДНК-спектры. Всего детектировано 956 полиморфных AFLP-фрагментов, из которых 182 характеризовали индивидуальные генотипы сортов. Рассчитанные коэффициенты межсортовых генетических различий (GD) варьировали от 0,005 до 0,064. На построенной дендрограмме все сорта объединялись в общий кластер со слабой внутренней дифференциацией, что указывало на низкую степень генетического полиморфизма. В то же время формирование дистанцированных базальных ветвей, выявленное у образцов близкородственных культурных видов *C. frutescens*, *C. chinense* и *C. baccatum*, отражает потенциал их генетического разнообразия, который может быть использован в селекции перца овощного.

Ключевые слова: *Capsicum annuum*, генетическое разнообразие, генетический полиморфизм, AFLP-маркеры.

Keywords: *Capsicum annuum*, genetic diversity, genetic polymorphism, AFLP-markers.

Перец (род *Capsicum*) — одна из основных овощных культур. Плоды перца обладают высокими показателями не только по вкусовым, диетическим и питательным свойствам, но и по содержанию витаминов. Из пяти культивируемых видов перца наиболее широко распространен *C. annuum*. Ежегодно мировое товарное производство перца *C. annuum* составляет около 27 млн т (1). В России перец выращивается в южных районах (Краснодарский и Ставропольский край, Ростовская область) на площади 9-10 тыс. га. Рост урожайности и объемов производства перца в открытом и особенно в защищенном грунте напрямую зависит от ассортимента выращиваемых сортов. Поэтому создание сортов и особенно гетерозисных гибридов с признаками, позволяющими успешно возделывать эту культуру в условиях России, остается актуальной задачей (2).

В настоящее время благодаря селекционной работе имеется огромное разнообразие сортоформ *C. annuum*, выделенных главным образом на основе признаков плода (форма, окраска, размер, степень остроты). Однако насколько это разнообразие соответствует истинному генетическому полиморфизму, до сих пор не выявлено. Генетический состав различных сортоформ перца, полученных по признакам плода, может быть весьма разнородным, а генетически схожие образцы — принадлежать к совершенно различным группам (3). В этом отношении оценка реального генетического разнообразия, выделение групп образцов и сортов *Capsicum* на основе сходства или различия их геномов особенно актуально для эффективного использования генетических ресурсов в селекции, своевременного выявления возможности генетической эрозии, а также для определения происхождения культурных видов и разновидностей в связи с историей окультуривания в регионах возделывания (4, 5).

Для оценки потенциала разнообразия генетического пула селекционеры традиционно используют фенотипические дескрипторы и/или

\* Работа поддержана грантами РФФИ 11-04-00446 и Государственным контрактом № 16.М04.11.0004 от 19.04.2011 с Министерством образования и науки РФ.

биохимические маркеры. Однако всем известные трудности, связанные с полигенностью большинства фенотипических признаков и их зависимостью от условий окружающей среды, ограничивают применение такого подхода. Кроме того, при больших объемах детальная характеристика коллекций по фенотипу достаточно трудозатратна. Поэтому незаменимым дополнением к фенотипическому описанию сортов становятся техники ДНК-генотипирования.

На современном этапе для генотипирования коллекций применяются различные по воспроизводимости, надежности и эффективности маркерные системы — RFLP (restriction fragment length polymorphism), RAPD (random amplified polymorphic DNA), STS (sequence tagged sites), AFLP (amplified fragment length polymorphism), SSR (simple sequence repeat), SNP (single nucleotide polymorphism) и др., позволяющие определять полиморфизм в различных областях генома. В настоящее время наиболее популярен быстрый и высоко воспроизводимый метод AFLP-анализа, дающий возможность одновременно анализировать большое число (50-300) полиморфных локусов преимущественно селективно-нейтральной природы, представленных уникальными и умеренно повторяющимися последовательностями (6). AFLP широко используется для анализа популяционного полиморфизма, филогенетических отношений, идентификации видов, маркирования локусов, сцепленных с хозяйственно ценными признаками (7-9). В селекции метод подходит для предварительной оценки генетического пула с целью планирования стратегии скрещиваний, подбора комбинаций генотипов, а также для проведения отбора (9-11). AFLP-подход хорошо зарекомендовал себя при исследованиях генетического полиморфизма у разных объектов, в том числе у культивируемых видов растений (12-14).

Мы оценили потенциал генетического разнообразия у сортов перца сладкого *Capsicum annuum*, наиболее часто используемых в отечественной селекции, с помощью AFLP-системы мультилокусного анализа.

*Методика.* Для исследования отобрали 45 наиболее распространенных сортов перца сладкого *C. annuum* отечественной селекции, в том числе 28 — селекции Всероссийского НИИ селекции и семеноводства овощных культур (ВНИИССОК), а также наиболее известные зарубежные сорта. Кроме того, были проанализированы образцы трех культурных видов — *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum*, которые часто используются в селекции сладкого и острого перца.

Выделение тотальной ДНК и AFLP-маркирование выполняли по стандартным методикам (15, 16). ДНК образцов (250 нг) гидролизovali с помощью рестриктаз EcoRI и TruI, лигировали с соответствующими адаптерами («Fermentas», Литва). ПЦР проводили с использованием набора реактивов («Диалат ЛТД», г. Москва) в амплификаторе фирмы «Applied Biosystems» (США). AFLP-маркирование осуществляли в два последовательных этапа: первый — преамплификация с использованием праймеров, комплементарных сайту рестрикции и последовательности адаптера с единственным дополнительным нуклеотидом на 3'-конце, второй — селективная амплификация с праймерами, имеющими по 2-3 дополнительных нуклеотида на 3'-конце (на этом этапе EcoRI-праймеры на 5'-конце также содержали инфракрасную метку IRD700 или IRD800). Полученные ДНК-фрагменты разделяли в 6 % полиакриламидном геле и визуализировали с использованием высокоразрешающей системы LI-COR 4300 ДНК-анализатора (17).

При статистическом анализе учитывали только четкие воспроизводимые фрагменты. Степень полиморфизма амплифицированных фрагмен-

тов генома определяли как отношение числа полиморфных фрагментов к общему числу полученных фрагментов, выраженному в процентах. Полиморфными считались фрагменты ДНК, встречающиеся не во всех спектрах анализируемых образцов. Молекулярные панели AFLP-фрагментов по каждой комбинации праймер/фермент документировали в программе Microsoft Excel в виде бинарных матриц 1/0. На основании построенных спектров и матриц выявляли сортоспецифичные ДНК-маркеры и рассчитывали коэффициенты попарного генетического сходства/различия (18, 19) между образцами.

Для статистической обработки данных, определения коэффициентов попарного сходства/различия, построения филогенетических деревьев использовали пакеты программ Statistica v. 6.0 (20), PAUP 4.0b10 (21) и Treescan (22).

**Результаты.** Подбор праймерных комбинаций, выявляющих межсортовой полиморфизм у *S. annuum*. В предварительных тестах использовали два фермента рестрикции (EcoRI, TruI), два соответствующих адаптера и восемь праймеров (табл. 1) и на ограниченной выборке образцов (5 сортов) сравнили эффективность 18 комбинаций праймер/фермент.

**1. Адаптеры и праймеры для преамплификации и селективной амплификации, использованные на предварительном этапе тестирования сортов *Capsicum annuum***

| Адаптер/праймер                       | Код             | Нуклеотидная последовательность                               |
|---------------------------------------|-----------------|---|
| Адаптеры                              |                 |   |
| EcoRI-адаптер                         |                 | 5'-CTC GTA GAC TGC GTA CC-3'<br>3'-CAT CTG ACG CAT GGT TAA-5' |
| TruI-адаптер                          |                 | 5'-GAC GAT GAG TCC TGA G-3'<br>3'-TA CTC AGG ACT CAT-5'       |
| Праймеры для преамплификации          |                 |   |
| EcoRI-праймер + А                     | E <sub>01</sub> | 5'-GAC TGC GTA CCA ATT C + А-3'                               |
| TruI-праймер + С                      | T <sub>02</sub> | 5'-GAT GAG TCC TGA GTA А + С-3'                               |
| Праймеры для селективной амплификации |                 |   |
| EcoRI-праймер + А + АСА               | E <sub>35</sub> | 5'-GAC TGC GTA CCA ATT C + АСА-3'                             |
| EcoRI-праймер + А + АGG               | E <sub>41</sub> | 5'-GAC TGC GTA CCA ATT C + АGG-3'                             |
| TruI-праймер + С + АСТ                | T <sub>38</sub> | 5'-GAT GAG TCC TGA GTA А + АСТ-3'                             |
| TruI-праймер + С + СГА                | T <sub>55</sub> | 5'-GAT GAG TCC TGA GTA А + СГА-3'                             |
| TruI-праймер + С + СТА                | T <sub>59</sub> | 5'-GAT GAG TCC TGA GTA А + СТА-3'                             |
| TruI-праймер + С + СТГ                | T <sub>61</sub> | 5'-GAT GAG TCC TGA GTA А + СТГ-3'                             |

Для последующего AFLP-анализа отобрали восемь праймерных комбинаций, позволяющих получать высокопроизводимые ДНК-спектры и выявлять межсортовой полиморфизм (табл. 2).

AFLP-анализ сортов сладкого перца. Отобранные восемь праймерных комбинаций использовали для оценки полиморфизма у 48 образцов перца, включающих 45 сортов *S. annuum* отечественной и зарубежной селекции и трех образцов, представляющих близкородственные виды *S. frutescens*, *S. chinense*, *S. baccatum* (см. табл. 2). Всего детектировано 1009 AFLP-фрагментов, из которых 956 (94,8 %) были полиморфными для всего набора образцов и 182 (45,5 %) характеризовали межсортовой полиморфизм *S. annuum*.

Длина взятых в анализ фрагментов варьировала от 80 до 450 п.н. (рис. 1). В зависимости от праймерной пары число полиморфных фрагментов для сортов *S. annuum* изменялось от 7 (для E-ACA/T-CTG) до 40 (для E-AGG/T-CTG), для сортов *S. annuum* и близкородственных видов *S. frutescens*, *S. chinense*, *S. baccatum* — от 97 (для E-ACA/T-СГА и E-AGG/T-СГА) до 151 (для E-AGG/T-СТА). Среднее число полиморфных фрагментов на каждую праймерную пару для сортов *S. annuum* составило

22,75, для всего набора генотипов — 119,5.

## 2. Показатели полиморфизма у сортов *Capsicum annuum* и видов *Capsicum*, полученные с использованием отобранных эффективных AFLP

| комбинация                       | селективные нуклеотиды         | Число фрагментов  |                 |   |            | сортоспецифичных |
|----------------------------------|--------------------------------|-------------------|-----------------|---|------------|------------------|
|                                  |                                | амплифицированных |                 |   |            |                  |
|                                  |                                | <i>C. annuum</i>  |                 | <i>C. annuum</i> + виды <i>Capsicum</i> |            |                  |
| общее                            | полиморфных (%)                | общее             | полиморфных (%) |   |            |                  |
| E <sub>35</sub> /T <sub>38</sub> | EcoRI + A + ACA/TruI + C + ACT | 66                | 35 (53,0)       | 132                                     | 129 (97,7) | 6                |
| E <sub>41</sub> /T <sub>38</sub> | EcoRI + A + AGG/TruI + C + ACT | 64                | 36 (56,3)       | 139                                     | 133 (95,7) | 14               |
| E <sub>35</sub> /T <sub>55</sub> | EcoRI + A + ACA/TruI + C + CGA | 37                | 13 (35,1)       | 100                                     | 97 (97,0)  | 2                |
| E <sub>41</sub> /T <sub>55</sub> | EcoRI + A + AGG/TruI + C + CGA | 39                | 15 (38,5)       | 102                                     | 97 (95,1)  | 6                |
| E <sub>35</sub> /T <sub>59</sub> | EcoRI + A + ACA/TruI + C + CTA | 47                | 9 (19,2)        | 114                                     | 99 (86,8)  | 1                |
| E <sub>41</sub> /T <sub>59</sub> | EcoRI + A + AGG/TruI + C + CTA | 55                | 27 (49,1)       | 155                                     | 151 (97,4) | 6                |
| E <sub>35</sub> /T <sub>61</sub> | EcoRI + A + ACA/TruI + C + CTG | 22                | 7 (31,8)        | 110                                     | 106 (96,4) | 1                |
| E <sub>41</sub> /T <sub>61</sub> | EcoRI + A + AGG/TruI + C + CTG | 70                | 40 (57,1)       | 157                                     | 144 (91,7) | 6                |
| Всего                            |                                | 400               | 182 (45,5)      | 1009                                    | 956 (94,8) | 42               |

Примечание. Описание праймеров см. в таблице 1.

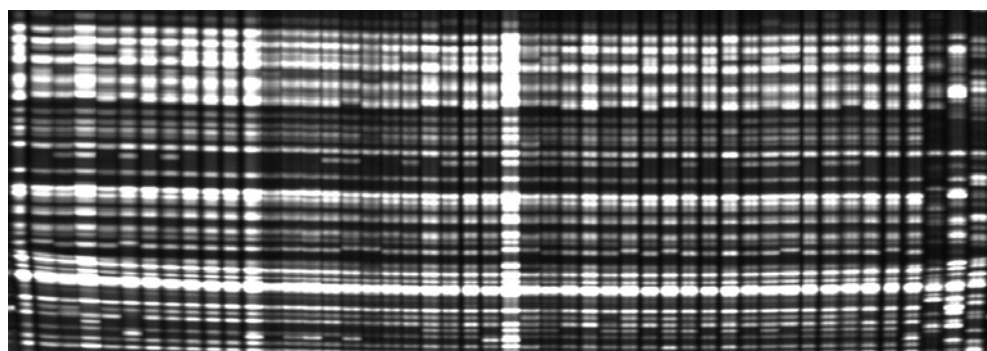


Рис. 1. AFLP-спектры у видов *Capsicum*, полученные при использовании праймерной комбинации E-AGG/T-CTG (представлен фрагмент геля).

Наибольшую эффективность при выявлении сортового полиморфизма продемонстрировали праймерные комбинации E-AGG/T-CTG и E-ACA/T-ACT. Доля полиморфных фрагментов, детектированных с их помощью, составила соответственно 57,1 и 53,0 %. Для всего набора генотипов наиболее информативными оказались праймерные пары E-ACA/T-ACT и E-ACA/T-CTA: выявляемый с их помощью полиморфизм составил соответственно 97,7 и 86,8 %.

В научных публикациях неоднократно отмечалась невозможность определения большого числа полиморфных фрагментов у сортов перца сладкого посредством AFLP-маркирования. Так, I. Pagan с соавт. (23) в наборе из 34 сортов *C. annuum* разного происхождения при использовании 10 праймерных пар получили только 13 % полиморфных фрагментов и около 6,5 полиморфных локусов на праймерную пару. S. Tam с соавт. (24) у 35 генотипов перца для 9 праймерных пар обнаружили только 8,03 % полиморфных фрагментов. По всей видимости, специально подобранные нами праймеры позволили детектировать уникальные сортоспецифичные AFLP-фрагменты: с помощью восьми праймерных комбинаций у 24 сортов было выявлено 42 сортоспецифичных фрагмента и для каждого сорта получены уникальные AFLP-спектры. Наибольшим числом специфичных фрагментов характеризовались геномы сортов Pirati, Каскад, Хризолит и Златозар. Идентифицированные сортоспецифичные AFLP-фрагменты в дальнейшем могут быть модифицированы в SCAR-маркеры (sequence characterized amplified regions) этих сортов.

Несмотря на то, что для каждого образца мы получили индивиду-

альные спектры AFLP-фрагментов, а для 24 сортов — сортоспецифичные AFLP-маркеры, степень межсортового полиморфизма оказалась очень низкой. Величина коэффициента генетических различий (GD) варьировала от 0,005 (сорта Мазурка и Пурпурная красавица) до 0,064 (сорта Каскад и Медаль) и в среднем составила 0,037.

Полученные результаты подтверждают данные многих авторов, использовавших для анализа техники мультилокусного маркирования RAPD и AFLP. В работе I. Paran с соавт. (23) также отмечалось крайне низкое (практически нулевое) генетическое разнообразие при сравнении крупноплодных сортов перца (*Saxo*, *Capistrano*, *Jupiter*, *HA 789*, *Reflex*, *Marvello*). Н. Aktas с соавт. (25) сообщают об отсутствии значительных различий между европейскими крупноплодными сортами. При этом несколько больший полиморфизм был выявлен у местных сортов и образцов из Турции с генетическим расстоянием (GD) 0,079, а также у некоторых мелкоплодных острых сортов перца разного происхождения (GD = 0,070) (23, 25).

Столь слабый сортовой генетический полиморфизм, с одной стороны, может определяться ограниченностью генетического пула, используемого в селекции крупноплодных сортов перца сладкого, с другой — отражать консервативность генома у культивируемого вида *S. annuum*, связанную с самоопылением. Следует отметить, что у сортов такого самоопылителя, как культурный томат *Lycopersicon esculentum* (26), тоже очень слабо выражен полиморфизм генома. Как известно, узкая генетическая основа стала «бутылочным горлышком» в селекции томата (27-29).

Интересно отметить, что генетические различия (GD) между сортами *S. annuum* и близкородственными видами *S. frutescens*, *S. chinense*, *S. baccatum* были существенно выше (генетические расстояния составили соответственно 0,43; 0,46 и 0,43). При достаточно высоком родстве *S. annuum*—*S. frutescens*—*S. chinense*, относящихся к одному эволюционно-филогенетическому комплексу видов, выявленный полиморфизм указывает на существование генетического потенциала, который может быть использован в селекции современных сортов перца *S. annuum*.

Аналогичный потенциал у других близкородственных видов комплекса *annuum* описан в работе К. Sanatombi с соавт. (5): если между сортами *S. annuum* величина GD соответствовала 0,2, то между *S. annuum* и *S. chinense* ее величина достигала 0,7.

На основании данных о генетическом полиморфизме сортов и образцов была построена дендрограмма, отражающая сходство изучаемых генотипов у видов перца (рис. 2). При этом каждый из исследованных генотипов дифференцировали. Наилучшие результаты по дифференциации генотипов дали комбинации праймеров E<sub>41</sub>/T<sub>61</sub>, E<sub>41</sub>/T<sub>59</sub>, E<sub>41</sub>/T<sub>38</sub> и E<sub>35</sub>/T<sub>38</sub>. С их помощью у сортов *S. annuum* удавалось идентифицировать соответственно 91, 82, 80 и 77 % исследованных геномов, причем уже две праймерные комбинации позволяли дифференцировать генотипы всех 45 сортов. Как и ожидалось, базальное положение на дендрограмме занял представитель вида *S. baccatum* (генетический комплекс *baccatum*). Представители культурных видов (*S. annuum*, *S. frutescens*, *S. chinense*), относящихся к генетическому комплексу *annuum*, формировали один общий кластер, в котором *S. frutescens* и *S. chinense* объединялись (75 %), тогда как сорта *S. annuum* образовывали отдельную малополиморфную группу (100 %).

В целом топология кластера *S. annuum* в полной мере отражала низкую сортовую вариабельность и консервативность генома у изученных образцов этого вида. Дендрограмма наглядно демонстрирует практически полное отсутствие какой-либо групповой дифференциации в кластере

*C. annuum*. Исключение составили несколько малых групп с индексом бутстрепа (ИБ) более 50 %, объединяющих по 2-3 сорта. Так, сорта Изабелла и Родник, формировавшие на дендрограмме группу с ИБ = 57 %, в родословной имеют общего родителя — чешский сорт Рубин.

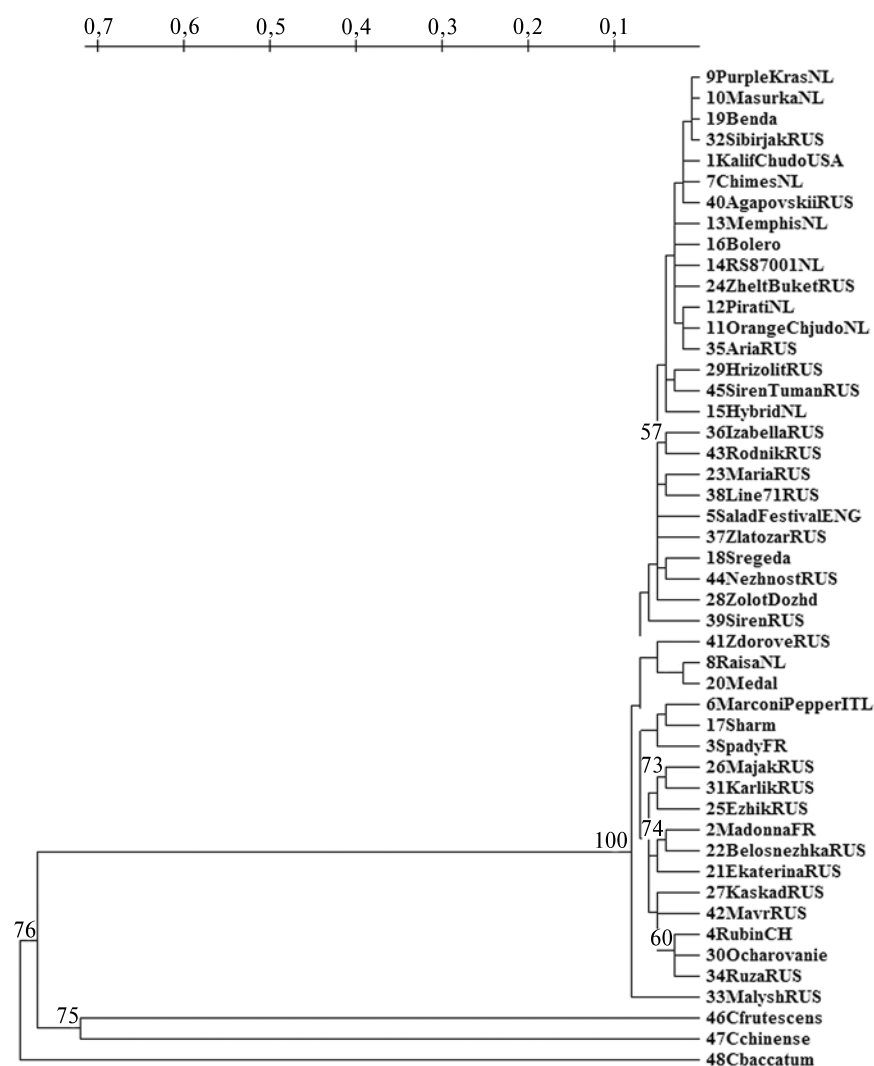


Рис. 2. Дендрограмма генетических различий (GD) у 48 исследованных генотипов перца рода *Capsicum*, построенная на основании результатов AFLP-анализа с использованием специально подобранных восьми пар праймеров: образцы №№ 1-45 — *C. annuum*, 46, 47 и 48 — соответственно *C. frutescens*, *C. chinense* и *C. baccatum*.

Другая группа с ИБ = 74 % (сорты Белоснежка и Мадонна) предположительно характеризуются присутствием в родословной общего сорта Garden Sunshine. Аналогичным образом родство гибридов Очарование, Руза и родительского сорта Рубин отражалось на дендрограмме кластером с ИБ = 60 %. Для сортов Маяк и Карлик, объединившихся в кластер с ИБ = 73 %, известно, что их геномы несут одинаковый аллельный вариант гена *fa* (букетное расположение плодов). Наибольшие различия в кластере *C. annuum* были продемонстрированы для сорта Малыш, в родословной которого имеется вид *C. baccatum*. В целом степень генетических различий между отдельными представителями этого кластера не превышала 0,1.

Таким образом, нами подобраны комбинации AFLP-праймеров и

ферментов, позволяющие получать полиморфные ДНК-спектры для сортов *Capsicum annuum*, наиболее широко используемых в отечественной селекции перца сладкого. С помощью двух из предложенных праймерных комбинаций можно дифференцировать генотипы всех 45 изученных сортов. Для каждого сорта получены специфичные спектры фрагментов амплификации, для 24 сортов — сортоспецифичные фрагменты, которые могут быть преобразованы в сортоспецифичные монолокусные ДНК-маркеры (SCAR-маркеры). При этом показана крайне низкая степень генетического полиморфизма и высокая консервативность генома у *C. annuum*. Очевидно, что как в России, так и за рубежом существует необходимость в расширении генетической основы для селекции сортов перца и привлечении более полиморфных источников хозяйственно полезных признаков, представителей близкородственных дикорастущих и культурных видов (*C. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense*), образцов из центров происхождения и других дивергентных локальных популяций.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. FAO Production year book, 2010 (<http://faostat.fao.org/>).
2. Пышная О.Н. Научное обоснование системы методов селекции и семеноводства перца сладкого и острого для средней полосы России. Автореф. док. дис. М., 2005.
3. Bosland P.W., Votava E.J. Peppers: Vegetable and spice Capsicums. Crops Production Science in Horticulture, 12. CABI Publishing, Wallingford, 2000.
4. Ortiz A., Cervantes P., Zlotnik P., Van de Velde C., Slaney C., Garnham J., Turecki G., O'Donovan C., Alda M. Cross-prevalence of migraine and bipolar disorder. *Bipolar Disorder*, 2010, 12: 397-403.
5. Sanatombi K., Sen-Mandi S., Sharma G.J. DNA profiling of *Capsicum* landraces of Manipur. *SciHort*, 2010, 124: 405-408.
6. Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.*, 1995, 23: 4407-4414.
7. Renganayaki K., Read J.C., Fritz A.K. Genetic diversity among Texas bluegrass genotypes (*Poa arachnifera* Torr.) revealed by AFLP and RAPD markers. *Theor. Appl. Genet.*, 2001, 102: 1037-1045.
8. Soleimani V.D., Baum B.R., Johnson D.A. Identification of Canadian durum wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf) Husn.) cultivars using AFLP and their STS markers. *Can. J. Plant Sci.*, 2002, 82: 35-41.
9. Kim P., Leckman J.F., Mayes L.C., Feldman R., Wang X., Swain J.E. The plasticity of human maternal brain: Longitudinal changes in brain anatomy during the early postpartum period. *Behavioral Neuroscience*, 2010, 124: 695-700.
10. Sensi E., Vignani R., Scali M., Masi E., Cresti M. DNA fingerprinting and genetic relatedness among cultivated of *Oleaeuropaea* L. estimated by AFLP analysis. *SciHort.*, 2003, 97: 379-388.
11. Portis E., Acquadro A., Comino C., Lanteri S. Effect of farmer's seed selection on genetic variation of landrace population of pepper (*Capsicum annuum* L.), grown in North-West Italy. *Genet. Res. Crop Evol.*, 2004, 51: 581-590.
12. Wang F., Li F., Wang J., Zhou Y., Sun H. Genetic diversity of the selected 64 potato germplasms revealed by AFLP markers. *Mol. Plant Breed.*, 2011, 12(4): 22-29.
13. Tümbülen Y., Frary A., Mutlu S., Doğanlar S. Genetic diversity in Turkish eggplant (*Solanum melongena*) varieties as determined by morphological and molecular analyses. *Int. Res. J. Biotechnol.*, 2011, 2(1): 16-25.
14. Akkale C., Yildirim Z., Yildirim M.B., Kaya C., Öztürk G., Bahattin T. Assessing genetic diversity of some potato (*Solanum tuberosum* L.) genotypes grown in Turkey using the AFLP marker technique. *Turkish J. Field Crops*, 2010, 15(1): 73-78.
15. Edwards K., Johnstone C., Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. *Nucl. Acid Res.*, 1991, 19(6): 1349.
16. Снигирь Е.А., Рыжова Н.Н., Кочиева Е.З., Пышная О.Н. Характеристика полиморфизма микросателлитного локуса SAMS-336 у сортов перца и близкородственных видов. *Сельскохозяйственная биология*, 2011, 6: 45-50.
17. <http://www.licor.com>.
18. Jaccard P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.*, 1908, 44: 223-270.

19. Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. PNAS USA, 1979, 76: 5269-5273.
20. Statistica (data analysis software system), version 6. StatSoft, Inc. 2001 (<http://www.statsoft.com>).
21. Swofford D.L. PAUP (and Other Methods). Phylogenetic analysis using parsimony. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, 2002 (<http://www.sinauer.com/detail.php?id=8060>).
22. Van de Peer Y., De Wachter R. Construction of evolutionary distance trees with TREECON for Windows: accounting for variation in nucleotide substitution rate among sites. Comput. Applic. Biosci., 1997, 13: 227-230.
23. Paran I., Aftergoot E., Shifriess C. Variation in *Capsicum annuum* revealed by RAPD and AFLP markers. Euphytica, 1998, 99: 167-173.
24. Tam S.M., Mhiri C., Vogelaar A., Kerkveld M., Pearce S.R., Grandbastien M.A. Comparative analyses of genetic diversities within tomato and pepper collections detected by retrotransposon-based SSAP, AFLP and SSR. Theor. Appl. Genet., 2005, 110(5): 819-831.
25. Aktas H., Abak K., Sensoy S. Genetic diversity in some Turkish pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes revealed by AFLP analyses. African J. Biotechnol., 2009, 8(18): 4378-4386.
26. Young H.P., Marilyn A.L., West M.A., St Clair D.A. Evaluation of AFLPs for germplasm fingerprinting and assessment of genetic diversity in cultivars of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). Genome, 2004, 47: 510-518.
27. Garcia-Martinez S., Andreani L., Garcia-Gusano M., Geuna F., Ruiz J.J. Evaluation of ampliWed length polymorphism and simple sequence repeats for tomato germplasm Wngerprinting: utility for grouping together closely related cultivars. Genome, 2006, 49: 648-656.
28. Rajput S., Wable G.K.J., Sharma K.M., Kubde P.D., Mula S.A. Reproducibility testing of RAPD and SSR markers in tomato. African J. Biotechnol., 2006, 5: 108-112.
29. Hiroaki E., Hiroyuki I., Tadashi T., Shigeru I. Genetic diversity of the «peruvianum-complex» (*Lycopersicon peruvianum* L. Mill. and *L. chilense* Dun.) revealed by RAPD analysis. Euphytica, 2000, 116: 23-31.

*ГНУ Всероссийский НИИ селекции  
и семеноводства овощных культур*

*Россельхозакадемии,  
143080 Московская обл., Одинцовский р-н, пос. ВНИИССОК,  
e-mail: pishnaya\_o@mail.ru;*

*2Учреждение Российской академии наук*

*Центр «Биоинженерия» РАН,  
117312 г. Москва, просп. 60-летия Октября, 7, корп. 1,  
e-mail: ekochieva@yandex.ru*

*Поступила в редакцию  
12 мая 2012 года*

## AFLP-ANALYSIS OF VARIETAL POLYMORPHYSM IN *Capsicum annuum* L.

*E.A. Snigir<sup>1, 2</sup>, O.N. Pyshnaya<sup>1</sup>, E.Z. Kochieva<sup>2</sup>, N.N. Ryzhova<sup>2</sup>*

### S u m m a r y

AFLP-system of multipoint marking was used for estimation of genetic diversity in 45 varieties of *Capsicum annuum* L. As a result, it was selected 8 primer combinations, which were the most informative for marking of paprika genome. Due to these primers the authors obtained the specific DNA-spectrums for each variety. In total, 956 polymorphous AFLP-fragments were detected, of which 182 fragments characterize the individual varietal genotypes. The calculated coefficients of intervarietal genetic diversity are varying from 0.005 to 0.064. On dendrogram all varieties form general cluster with weak intrinsic differentiation that indicates the low degree of genetic polymorphism. So the forming of distance basal branches, revealed in closely related cultural species *C. frutescens*, *C. chinense* and *C. baccatum*, reflects the potential of their genetic diversity which may be used in paprika breeding.

### Новые книги

Кони́чев А.С., Цветков И.Л., Попов А.П. и др. **Практикум по молекулярной биологии**. М.: изд-во «КолосС», 2012, 151 с.

В учебном пособии представлены прописи для лабораторных работ, связанных с изучением строения и функций нуклеиновых кислот и белков и использованием наиболее широко распространенных методов современной молекулярной биологии. Описа-

ны также элементарных экспериментальные приемы, позволяющие получить качественные и количественные результаты, характеризующие свойства белков и нуклеиновых кислот. Рассмотрены теоретические обоснования методов, наиболее важные аспекты их использования, целевое назначение применяемых в каждом случае реактивов и оборудования, приведено поэтапное описание выполняемых операций.