

## Молекулярное маркирование

УДК 635.11:575.2:577.29:57.088.1

### **RAPD-АНАЛИЗ КОЛЛЕКЦИОННЫХ ОБРАЗЦОВ ДИКОЙ И КУЛЬТУРНОЙ СВЕКЛЫ (*Beta L.*)**

**Ю.В. ЧЕСНОКОВ, В.И. БУРЕНИН, А.А. ИВАНОВ**

Примитивные (переходные) формы и дикие виды свеклы близки к возделываемой культурной свекле (сахарная, столовая, кормовая и листовая), содержат полезные признаки, скрещиваются с культивируемой свеклой и могут непосредственно использоваться в селекционных программах. Трудности при определении статуса образцов и порядка их хранения в генном банке касаются прежде всего их таксономии и систематики, например правильности дискриминации *Beta maritima* vs *B. vulgaris*, а также установления отличий *B. maritima* от *B. adanensis* или *B. macrocarpa*. В настоящей работе с использованием классического морфобиологического анализа и молекулярных RAPD-маркеров впервые уточнены филогенетические взаимоотношения внутри и между образцами дикой, примитивной и культурной свеклы *Beta L.* из мировой коллекции Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР). На основе полученных электрофоретических профилей с помощью метода невзвешенного парно-группового кластерного анализа с арифметическим усреднением (UPGMA) построены филогенетические древа. Полученное нами подтверждение предложенного в 1983 году филогенетического деления видов рода *Beta L.* еще раз указывает на правильность этой классификации.

**Ключевые слова:** виды рода *Beta L.*, RAPD-анализ, филогенетические взаимоотношения.

**Keywords:** species of *Beta L.* genus, RAPD analysis, phylogenetic interactions.

Проанализировав разнообразный сортимент свеклосеющих стран и существовавшую в то время мировую литературу, Н.И. Вавилов (1) выделил два генетических центра происхождения культурной свеклы и ее дикорастущих сородичей — среднеазиатский и переднеазиатский. В них, по разным источникам, сосредоточено от 13 до 15 дикорастущих видов и от 23 до 25 примитивных (переходных к культурным) форм (2, 3).

Как известно, примитивные (переходные) формы и дикие виды свеклы близки к возделываемой культурной свекле (сахарная, столовая, кормовая и листовая) и поэтому представляют собой важный источник зародышевой плазмы указанного рода. Поскольку такие виды содержат полезные признаки и скрещиваются с культивируемой свеклой, они могут непосредственно использоваться в селекционных программах (2, 4). Их полезные признаки включают разделноплодность, цитоплазматическую мужскую стерильность (ЦМС), холодо- и солеустойчивость, а также устойчивость к заболеваниям и пестицидам.

Из 15 видов рода *Beta L.* пять дикорастущих (*B. pattelaris*, *B. procumbens*, *B. webbiana*, *B. lomatogona*, *B. nana*) — разделноплодные (односемянные), остальные виды, включая культурную свеклу, — многосемянные. Согласно закону гомологических рядов в наследственной изменчивости Н.И. Вавилова (5), предполагалось наличие разделноплодных форм и среди возделываемых сортов свеклы, что было затем подтверждено отечественными и американскими исследователями. В настоящее время разделноплодные сорта сахарной свеклы преобладают в посевах основных свеклосеющих стран Европы и Америки. Позднее разделноплодные формы были также найдены среди сортов столовой и кормовой свеклы (2, 3).

Некоторые признаки, например устойчивость к вирусам и ризомании (6), анатомическое строение корнеплода (7), устойчивость к нематоде (8), были перенесены в сахарную свеклу методами традиционной селек-

ции. Новые источники ЦМС от дикой свеклы использовались для расширения изменчивости с целью уменьшения чувствительности к заболеваниям, возникающим из-за высокой степени цитоплазматической однородности (9). Кроме того, виды дикой свеклы представляют экспериментальный интерес, поскольку некоторые из них имеют очень короткий жизненный цикл, продуцируют цветки и семена в течение 10-15 нед (в отличие от двухлетней культурной свеклы) и, следовательно, за очень короткий период времени генетическому, молекулярно-биологическому или селекционному изучению может быть подвергнуто много поколений.

В связи с высоким значением (как экономическим, так и научным) этой зародышевой плазмы создаются коллекции образцов рода *Beta*, которые сохраняются в различных генных банках семян. Однако исследования кураторов коллекций показывают, что при определении статуса образцов и особенно порядка их хранения и воспроизводства существуют трудности (3, 10). Прежде всего это касается таксономии и систематики, например правильности дискриминации вида *B. maritima* vs *B. vulgaris*, а также установление отличий *B. maritima* от *B. adanensis* или *B. macrocarpa*. Прояснение этих вопросов особенно важно в связи с характеристикой и сохранением собранных образцов в генном банке.

С развитием RAPD-анализа (random amplified polymorphic DNA) (11) многие виды растений были изучены с его помощью (12). Этот метод использовался не только для исследования генетического разнообразия внутри видов растений и разработки молекулярных маркеров для селекции (13), но и для построения генетических карт (14), в том числе у свеклы (15, 16).

Для установления генетических взаимоотношений как среди диких сородичей свеклы, так и у возделываемых сортов применялись разные молекулярные маркеры. Они использовались для генетического картирования и в селекционных работах или при установлении сомаклональной изменчивости, возникающей в культуре клеток и тканей *in vitro*. Эти подходы включали оценку по изоферментам (17-19), RFLP- (19-23), SSR- (24), RAPD-анализ (15, 25) и выполнение некоторых разновидностей специфичных проб (26). Так, M. Lorenz с соавт. (25) проводили RAPD-анализ тотальной, ядерной, митохондриальной и хлоропластной ДНК у двух практически изогенных линий цитоплазматически стерильной и фертильной сахарной свеклы. При этом различия в RAPD-спектре хлоропластной или митохондриальной ДНК наблюдались между цитоплазматически стерильными и фертильными линиями. Тем самым было показано, что методология RAPD может быть использована для выявления различных типов цитоплазмы. В другой работе (15) RAPD-маркеры применили для получения молекулярно-генетической карты сахарной свеклы (разновидность *altissima* Doell.). Всего при создании карты учитывали 50 RAPD-маркеров, 248 RFLP-маркеров и три классических маркерных локуса (*RrI*, *R* и *M*). Полученные результаты свидетельствовали, что RAPD-фрагменты способны служить хорошими и полноценными маркерами геномных районов, содержащих повторяющиеся последовательности ДНК.

В настоящей работе RAPD-маркеры были использованы для выявления связей между видами и внутри видов у рода *Beta* L. с целью установления филогенетических взаимоотношений у образцов дикой и культурной свеклы, сохраняемых в мировой коллекции Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР).

*Методика.* Материал для исследований включал образцы дикой свеклы — *B. perennis* (по каталогу ВИР к-2045, Азербайджан), *B. maritima*

(к-1368, Англия), *B. macrocarpa* (к-1788, Канарские острова), *B. spontaneus* (к-1365, Италия), *B. orientalis* (к-644, Индия), *B. cicla* (к-45, Германия), а также образцы культурной и примитивной свеклы вида *B. vulgaris* — Бордо 237 (к-201, РФ), Рамонская односемянная 47 (к-2953, РФ), Эккендорфская желтая (к-2028, РФ), Китайская белая (к-610, Кипр), Абхазская зеленолистая (к-947, Грузия), Аданская желтая (к-123, Турция), Афьонкарахискарская (к-117, Иран), Чарджуйская (к-1419, Узбекистан), Зимняя овальная (к-1296, РФ), Полудлинная красная (к-970, РФ), Длинночерешковая белая (к-159, Армения), Туркестанская зеленолистая (к-648, Грузия), Полосаточерешковая (к-169, Кипр), сохраняемые в мировой коллекции ВИР.

ДНК выделяли по стандартным методикам, описанным ранее (27). Чистоту и концентрацию полученной ДНК оценивали с помощью спектрофотометрии. ДНК считалась чистой, если соотношение показаний extinctionий  $OD_{260/230}$  и  $OD_{260/280}$  находилось в пределах 1,8-2,0. Дополнительно концентрацию ДНК определяли при электрофоретическом анализе в 1,5 % агарозном геле в ТВЕ-буфере, сравнивая с маркерными стандартами 1kb DNA Ladder GeneRuler («Fermentas», Литва).

ПЦР-амплификацию и последующий электрофоретический анализ проводили в соответствии с методом, предложенным ранее (28). Для RAPD-анализа ДНК исследуемых образцов использовали десятимерные олигонуклеотидные праймеры из наборов A (OPA 1-OPA 20) и C (OPC 1-OPC 20) производства компании «Operon Technologies» (Калифорния, США). ПЦР-амплификацию осуществляли в реакционной смеси (объем — 12,5 мкл), включавшей однократный инкубационный буфер,  $MgCl_2$  (1,5 mM), dNTP (для каждого — 100 мКМ), 0,25 ед. Таq ДНК-полимеразы («Qbiogene», Германия) и 20 нг геномной ДНК. Термоциклер («Bio Rad», США) программировали на исходную денатурацию при 94 °C в течение 3 мин с последующим проведением 45 циклов: отжиг — 36 °C 1 мин, расширение — 72 °C 2 мин, денатурация — 94 °C 0,3 мин. Затем следовало кочечное расширение при 72 °C в течение 10 мин.

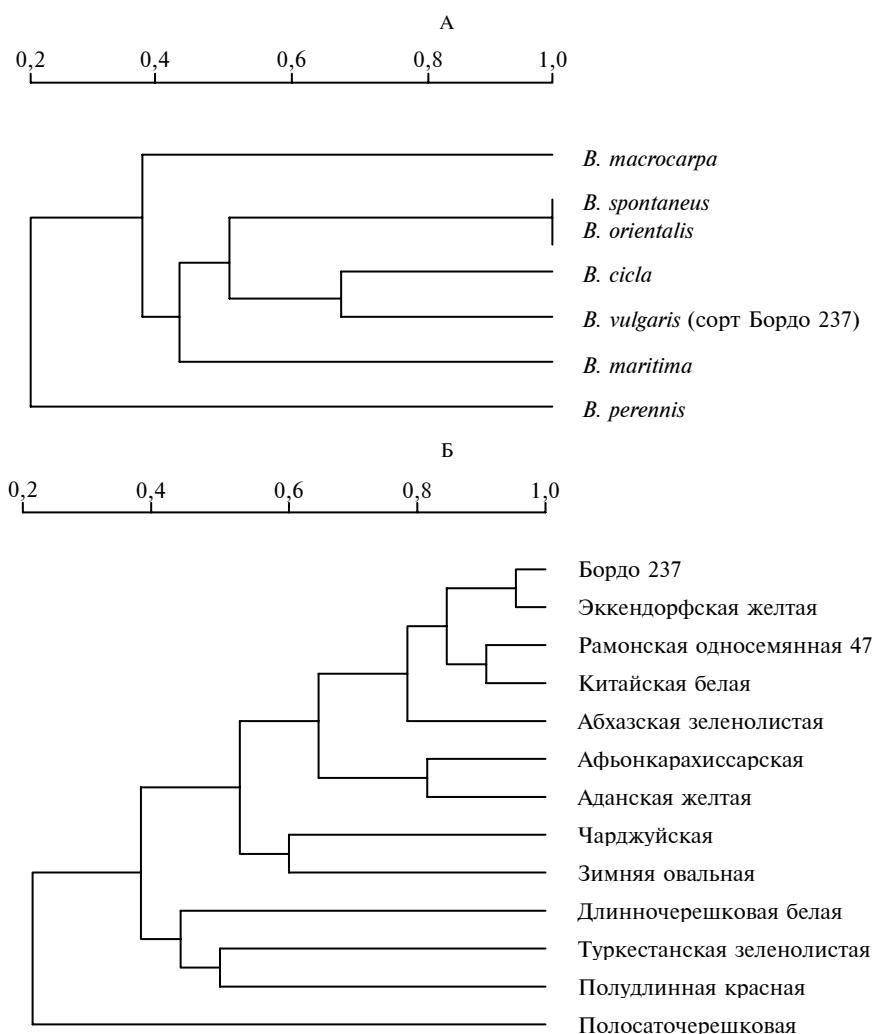
Продукты амплификации анализировали в 1,5-2,0 % агарозном геле в ТВЕ-буфере. Гели прокрашивали бромистым этидием и фотографировали в УФ-свете с помощью гель-документационной системы фирмы «Bio Rad» (США). Электрофоретические профили анализировали визуально, определяя число полос для каждого образца. Присутствие или отсутствие маркерной полосы для каждой электрофоретической дорожки обозначалось соответственно как 1 или 0. Учитывали только четко выраженные полосы, сомнительные считали отсутствовавшими.

Генетические дистанции устанавливали при попарном сравнении образцов в соответствии с методом, описанным M. Nei и W.H. Li (29), по формуле:  $GS = 2n_{xy}/(n_x + n_y)$ , где GS — генетическая симиллярность;  $n_x$  и  $n_y$  — число электрофоретических полос в образцах x и y,  $n_{xy}$  — число полос, общих для обоих сравниваемых образцов. Полиморфизм для каждого образца или внутри идентифицируемых групп оценивали по частоте полиморфных полос по отношению к общему числу отмечаемых полос или с помощью индекса Shannon-Weaver (30). Величину  $\chi^2$  находили на основании подсчета числа полиморфных и гомологичных полос. Для построения филогенетический деревьев использовали метод невзвешенного парно-группового кластерного анализа с арифметическим усреднением — UPGMA (31) и программу NTSYS-рс (32).

*Результаты.* При установлении филогенетических отношений ме-

жду исследуемыми представителями видов рода *Beta* L. RAPD-анализ каждого образца повторяли дважды. Поскольку между результатами при повторениях наблюдались небольшие колебания, вызванные статистической экспериментальной погрешностью, то в последующие расчеты принимали только ампликоны, не варьировавшие между повторностями. Во избежание ошибки, обусловленной гетерогенностью того или иного образца, тотальную ДНК выделяли из каждого растения отдельно (всего по каждому образцу отбирали 12 растений). ДНК, предназначенную для анализа, смешивали в равных пропорциях.

В предварительных экспериментах для каждого изучаемого образца случайным образом отобрали по несколько растений и индивидуально исследовали их ДНК с помощью RAPD-анализа. По результатам из 40 праймеров отобрали 19 полиморфных, которые позволяли выявлять полиморфизм внутри образца или между изучаемыми образцами.



Дендрограммы филогенетических отношений между образцами диких (А) и культурного (Б) видов свеклы *Beta* L., построенные с применением метода невзвешенного парно-группового кластерного анализа с арифметическим усреднением (UPGMA).

Последующий RAPD-анализ проводили, используя совокупную (bulk) ДНК каждого образца и отобранные 19 праймеров. Полученные электрофоретические RAPD-профили выявили полиморфизм между ис-

следуемыми образцами. Всего обнаружили 63 полиморфных маркера, каждый из которых был проанализирован с построением дендрограмм методом UPGMA для установления филогенетических взаимоотношений между изучаемыми образцами.

Так, между формами дикого типа (рис., А) прослеживалась кластеризация, позволяющая предположить, что вид *B. perennis* — наиболее древний из изученных. От него берут начало *B. macrocarpa* и *B. maritima*, причем, по всей видимости, *B. maritima* — предок *B. spontaneus* и *B. orientalis*. Судя по дендрограмме, формы *B. spontaneus* и *B. orientalis*, скорее всего, следует отнести если не к одному и тому же образцу, то к одному виду, а не к разным таксономическим единицам. Два других вида — *B. cicla* и *B. vulgaris* (сорт Бордо 237) образовывали вполне самостоятельный кластер, который, как и кластер *spontaneus/orientalis*, имеет общие корни с *B. maritima*.

Степень полиморфизма среди семи изученных образцов дикого типа иллюстрируют данные, представленные в таблице 1.

**1. Результаты сравнительного анализа RAPD полиморфизма, выявленного среди семи образцов различных видов рода *Beta* L. из коллекции Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР)**

Образец \ Образец	<i>B. perennis</i>	<i>B. maritima</i>	<i>B. macrocarpa</i>	<i>B. spontaneus</i>	<i>B. orientalis</i>	<i>B. cicla</i> (сорт Бордо 237)	<i>B. vulgaris</i>	
	Ч а с т о т а 0,141	п о л и м о р ф н ы х 0,537	п о л о с	0,543	0,500	0,500	0,187	0,193
		S h a n n o n - W e a v e r g	I n d e x					
	0,14	0,41	0,41	0,40	0,39	0,16	0,17	
			$\chi^2$					
<i>B. perennis</i>	< 0,001	< 0,01	н д	н д	< 0,05	< 0,05		
<i>B. maritima</i>		н д	< 0,001	< 0,05	< 0,01	< 0,001		
<i>B. macrocarpa</i>			< 0,05	н д	< 0,05	н д		
<i>B. spontaneus</i>				< 0,001	< 0,05	н д		
<i>B. orientalis</i>					н д	< 0,05		
<i>B. cicla</i>						н д		
<i>B. vulgaris</i> (сорт Бордо 237)							< 0,001	

П р и м е ч а н и е. н д — не достоверно.

Аналогично были проанализированы 13 образцов культурного вида свеклы *B. vulgaris*. В этом случае самым древним генотипом оказался образец сортотипа Полосаточерешковая. На полученной дендрограмме (см. рис., Б) отчетливо выделялись четыре кластера. В первый объединялись сортотипы Длинночерешковая белая, Туркестанская зеленолистая и Полудлинная красная. Этот кластер наиболее древний и непосредственно примыкает к внешней группе (outgroup), образованной сортотипом Полосаточерешковая. Остальные три кластера вполне самостоятельно формировали группу образцов, по своему происхождению менее древних, чем входящие в предыдущий кластер. В частности, сортотипы Зимняя овальная и Чарджуйская составляли кластер, который древнее кластера, образованного сортотипами Афyonкарахисарская и Аданская желтая. Однако последние оказались все же эволюционно более молодыми по сравнению с сортотипом Абхазская зеленолистая из последнего, четвертого кластера. В четвертый кластер также вошли сортотипы Китайская белая, Рамонская односемянная 47, Эккендорфская желтая и Бордо 237. Все они, судя по дендрограмме, наименее древние среди изученных образцов культурной свеклы.

Данные о степени полиморфизма, выявленной у этих форм свеклы с помощью RAPD-анализа, представлены в таблице 2.

Таким образом, проведенный нами RAPD-анализ позволил установить молекулярно-генетические и таксономические взаимоотношения ме-

**2. Результаты сравнительного анализа RAPD-полиморфизма, выявленного среди 13 образцов вида *Beta vulgaris* из коллекции Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР)**

Образец \ Образец	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Ч а с т о т а п о л и м о р ф н ы х п о л о с													
Shannon - Weaver Index													
$\chi^2$													
1	< 0,05	< 0,001	н.д.	< 0,01	н.д.	< 0,01	< 0,001	< 0,01	< 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,01	0,193
2	< 0,01	< 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,05	н.д.	< 0,05	< 0,01	н.д.	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,336
3	< 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,05	< 0,01	н.д.	< 0,01	< 0,05	н.д.	< 0,05	< 0,05	0,547
4	< 0,01	< 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,001	< 0,01	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,01	0,125
5	< 0,001	< 0,01	< 0,01	< 0,05	н.д.	< 0,001	< 0,01	< 0,05	н.д.	< 0,001	н.д.	< 0,001	0,24
6	< 0,01	< 0,001	< 0,05	< 0,05	< 0,05	н.д.	< 0,05	< 0,01	< 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,01	0,187
7	< 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,01	< 0,001	< 0,01	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,01	< 0,05	0,317
8	< 0,01	< 0,05	н.д.	< 0,05	н.д.	< 0,001	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,642
9	< 0,01	< 0,01	< 0,05	< 0,05	< 0,05	н.д.	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05	0,511
10													0,235
11													0,321
12													0,507
13													0,512

П р и м е ч а н и е. Сортотипы: 1 — Полосаточерешковая, 2 — Полудлинная красная, 3 — Туркестанская зеленолистая, 4 — Длинночерешковая белая, 5 — Зимняя овальная, 6 — Чарджуйская, 7 — Аданская желтая, 8 — Афьонкарахисарская, 9 — Абхазская зеленолистая, 10 — Китайская белая, 11 — Рамонская односемянная 47, 12 — Эккендорфская желтая, 13 — Бордо 237; н.д. — не достоверно.

жду изучаемыми образцами дикой и культурной свеклы из мировой коллекции ВИР. Ранее другие исследователи использовали RAPD-анализ для выявления генетических взаимоотношений внутри рода *Beta* L. (33), построения и насыщения молекулярными маркерами генетических карт свеклы (16), картирования QTL, определяющих устойчивость к вирусу желтой некротической реакции жилок листа свеклы (34, 35), а также идентификации и маркирования генов цитоплазматической мужской стерильности (36). Для определения генетических взаимодействий у свеклы применяли и другие молекулярные маркеры, например последовательности инtronов хлоропластов (37), ДНК ядерных рибосомальных единиц (38), RFLP-маркеры (39), а также повторяющиеся сателлитные (40) и митохондриальные последовательности (41). Все это свидетельствует о довольно широком спектре молекулярно-генетических инструментов и подходов при решении стоящих перед исследователями задач, прежде всего филогенетических и таксономических, и важности проблемы.

Полученные нами результаты хорошо согласуются с предложенной ранее классификацией диких видов свеклы (10). Так, на основе морфобиологических характеристик постулировано, что *B. perennis*, *B. macrocarpa*, *B. maritima* и *B. cicla* — самостоятельные виды, из них наиболее древние *B. perennis* и *B. macrocarpa*. В то же время *B. orientalis* и *B. spontaneus* близки между собой и с *B. maritima* и могут, скорее всего, рассматриваться как подвиды последнего. Кроме того, было установлено (10), что сорта Длинночерешковая, Полосаточерешковая, Туркестанская и Полудлинная — примитивные формы, наиболее удаленные от современных сортотипов Бордо 237, Эккендорфская желтая и Рамонская односемянная 47. Близкими к современным формам культурной свеклы были сортотипы Абхазская, Зимняя овальная, а также Аданская желтая. Промежуточное положение, согласно приведенным данным (10), занимали сортотипы Чарджуйская и Афьонкарахисарская, что также согласуется с результатами проведенного нами RAPD-анализа. Выполненный молекулярно-генетический анализ подтвердил филогенетическое деление видов рода *Beta* L., предложенное в 1983 году В.И. Бурениным (42), которое отличалось от классификаций, раз-

работанных ранее другими исследователями (10).

Итак, впервые с использованием классического морфобиологического и молекулярно-генетического анализов были уточнены филогенетические взаимоотношения внутри и между образцами дикой, примитивной и культурной свеклы. Полученное нами подтверждение предложенного в 1983 году филогенетического деления видов рода *Beta* L. еще раз указывает на правильность этой классификации. Результаты RAPD-маркирования позволяют целенаправленно характеризовать образцы коллекции Всероссийского НИИ растениеводства (ВИР) и использовать их в селекционно-генетических исследованиях и программах.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вавилов Н.И. Теоретические основы селекции. М., 1935.
2. Красочкин В.Т. Свекла. Культурная флора СССР. Л., 1971: 7-266.
3. Буренин В.И. Генетические ресурсы рода *Beta* L. (свекла). СПб, 2007.
4. Van Geyt J.P.C., Lange W., Oeleo M., De Bock T.S.M. Natural variation within the genus *Beta* and its possible use for breeding sugar beet. *Euphytica*, 1990, 49: 57-76.
5. Вавилов Н.И. Закон гомологических рядов в наследственной изменчивости. Саратов, 1920.
6. Lewellen R.T. Pre-breeding sugar beet for virus and Rhizomania resistance (abstr.). A Report on the Third Int. Beta Genetic Resources Workshop and World Network Conference. Fargo, USA, 1993: 11.
7. Teurer J.C. Pre-breeding to change root architecture (abstr.). A Report on the Third Int'l. Beta Genetic Resources Workshop and World Network Conference. Fargo, USA, 1993: 11.
8. Lange W., De Bock T.M.S., Lankhorst R.K. Pre-breeding for nematode resistance in beet (abstr.). A Report on the Third Int'l. Beta Genetic Resources Workshop and World Network Conference. Fargo, USA, 1993: 13.
9. Dalko L., Szota M. Possibility for utilizing the male sterility from *Beta maritima* in sugar beet breeding (abstr.). A Report on the Third Int'l. Beta Genetic Resources Workshop and World Network Conference. Fargo, USA, 1993: 14.
10. Буренин В.И., Пивоваров В.Ф. Свекла. СПб, 1998.
11. Williams J.G.K., Kubilek A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucl. Acid Res.*, 1990, 18: 6531-6535.
12. Чесноков Ю.В. Генетические ресурсы растений и современные методы ДНК-типовидования. СПб, 2007.
13. Чесноков Ю.В. ДНК-фингерпринтинг и анализ генетического разнообразия у растений. Сельскохозяйственная биология, 2005, 1: 20-40.
14. Потокина Е.К., Чесноков Ю.В. Современные методы геномного анализа в исследованиях генетики количественных признаков у растений. Сельскохозяйственная биология, 2005, 3: 3-18.
15. Barzen E., Mechelke W., Ritter E., Shulte-Kappert E. An extended map of the sugar beet genome containing RFLP and RAPD loci. *Theor. Appl. Genet.*, 1995, 90: 189-193.
16. Nilsson N.-O., Hallden C., Hansen M., Hjerdin A., Säll T. Comparing the distribution of RAPD and RFLP markers in high density linkage map of sugar beet. *Genome*, 1997, 40: 644-651.
17. Abe J., Yoshioka H., Tsuda C. Genetic analysis for annuality and self fertility in wild relatives of sugar beet, made by using the pigment gene and some enzyme loci as markers. Proceeding of the Sugar Beet Research Association (Japan), 1985, No. 27.
18. Abe J., Tsuda C. Genetic analysis for enzyme variation in the section *Vulgares*, genus *Beta*. Japan. J. Breed., 1987, 37: 253-261.
19. Sabir A., Newbury H.J., Todd G., Catty J.P., Ford-Lloyd B.V. Determination of genetic stability using isozymes and RFLPs in beets plants regenerated in vitro. *Theor. Appl. Genet.*, 1992, 84: 113-117.
20. Mita G., Dani M., Casciari P., Pasquagli A., Selva E., Minganti C., Piccardi P. Assessment of the degree of genetic variation in beet based on RFLP analysis and taxonomy of *Beta*. *Euphytica*, 1991, 55: 1-6.
21. Nagamine T., Catty J.P., Ford-Lloyd B.V. Phenotypic polymorphism and allele differentiation of enzymes in fodder beet, multigerm sugar beet monogerms sugar beet. *Theor. Appl. Genet.*, 1987, 77: 711-720.
22. Levallois M.W., Bengtsson K., Nilsson N., Hjerdin A., Hallden C. Molecular characterization of UV-treated beet somaclones using RFLP markers. *Physiologia Plantarum*, 1994, 90: 216-220.
23. Boundary P., Weiber R., Saumitou-Laprade P., Pillen K., Van Dijk H., Jung C. Identification of RFLP markers closely linked to the bolting gene *B* and their significance.

- cance for the study of the annual habit in beets (*Beta vulgaris* L.). Theor. Appl. Genet., 1994, 88: 852-858.
24. Salontijn E.M.J., Sandal N.N., Klein-Lankhorst R., Lange W., De Bock T.H., Marcker K.A., Stiekema W.J. Long-range organization of the satellite DNA family flanking the beet cyst nematode resistance locus (*Hs1*) on chromosome 1 of *B. patellaris* and *procumbens*. Theor. Appl. Genet., 1994, 89: 459-466.
  25. Lorenz M., Weihe A., Borner T. DNA fragments of organellar origin in random amplified polymorphic DNA (RAPD) patterns of sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Theor. Appl. Genet., 1994, 88: 775-779.
  26. Senda M., Onodera Y., Kinoshita T., Mikami T. Mitochondrial gene variation and the relationships in the genus *Beta*. Theor. Appl. Genet., 1995, 90: 914-919.
  27. Дорохов Д.Б., Клоке Э. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов. Генетика, 1997, 33(4): 358-365.
  28. Virk P.S., Ford-Lloyd B.V., Jackson M.T., Newbury H.J. Use of RAPD for the study of diversity within plant germplasm collections. Heredity, 1995, 74: 170-179.
  29. Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonuclease. PNAS USA, 1979, 76: 5269-5273.
  30. Hennink S., Zeven A.C. The interpretation of Nei and Shannon-Weaver index within population variation indexes. Euphytica, 1990, 51: 235-240.
  31. Sneath P.H.A., Sokal R.R. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco, 1973.
  32. Rohlf F.J. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system. Exeter, NY, 1992.
  33. Shen Y., Ford-Lloyd B.V., Newbury H.J. Genetic relationships within the genus *Beta* determined using both PCR-based marker and DNA sequencing techniques. Heredity, 1998, 80: 624-632.
  34. Grimmer M.K., Trybush S., Hanley S., Francis S.A., Karp A., Asher M.J.C. An anchored linkage map for sugar beet based on AFLP, SNP and RAPD markers and QTL mapping of a new source of resistance to *Beet necrotic yellow vein virus*. Theor. Appl. Genet., 2007, 114: 1151-1160.
  35. Scholten O.E., Klein-Lankhorst R.M., Esselink D.G., De Bock T.S.M., Lange W. Identification and mapping of random polymorphic DNA (RAPD) markers linked to resistance against beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in *Beta* accessions. Theor. Appl. Genet., 1997, 94: 123-130.
  36. Nagihara E., Itchoda N., Habu Y., Iida S., Mikami T., Kubo T. Molecular mapping of a fertility restorer gene for Owen cytoplasmic male sterility in sugar beet. Theor. Appl. Genet., 2005, 111: 250-255.
  37. Мглинец А.В. Филогения представителей рода *Beta*, основанная на изучении *trnK* (*matK*) интрана хлоропластов. Доклады Академии наук, 2008, 420: 556-558.
  38. Saltoni S., Berville A. Characterization of the nuclear ribosomal DNA units and phylogeny *Beta* L. wild forms and cultivated beets. Theor. Appl. Genet., 1992, 83: 533-542.
  39. Jung C., Pille K., Frese L., Fähr S., Melching A.E. Phylogenetic relationships between cultivated and wild species of the genus *Beta* revealed by DNA «fingerprinting». Theor. Appl. Genet., 1993, 86: 449-457.
  40. Kubis S., Heslop-Harrison J.S., Schmidt T. A family of differentially amplified repetitive DNA sequences in the genus *Beta* reveals genetic variation in *Beta vulgaris* subspecies and cultivars. J. Mol. Evol., 1997, 44: 310-320.
  41. Nishizawa S., Mikami T., Kubo T. Mitochondrial DNAphylogeny of cultivated and wild beets: relationships among cytoplasmic male-sterility-inducing and nonsterilizing cytoplasms. Genetics, 2007, 177: 1703-1712.
  42. Буренин В.И. Свекла — *Beta* L. (систематика, генетика, исходный материал и методы селекции). Докт. дис. Л., 1983.

ГНУ Всероссийский НИИ растениеводства  
им. Н.И. Вавилова Россельхозакадемии,  
190000 г. Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, 44,  
e-mail: yu.chesnokov@vir.nw.ru

Поступила в редакцию  
11 апреля 2012 года

## RAPD ANALYSIS OF COLLECTION ACCESSIONS OF THE GENUS *Beta* L. SPECIES

*Yu.V. Chesnokov, V.I. Burenin, A.A. Ivanov*

### Summary

The primitive (transient) forms and wild varieties of beet are related to cultivated beet (sugar, table, fodder and mangold), have the useful properties, can be crossed with cultivated beet and used in breeding programs. However, there are some difficulties in estimating the status of beet samples and procedure for their storage in gene banks, which are caused by problems in beet taxonomy and systematics. In particular, a correct discrimination of *Beta maritima* vs *B. vulgaris* is hard to accomplish, and also the distinctions between *B. maritima* and *B. adanensis* or *B. macrocarpa*

are difficult to identify. With the use of classical morphobiological analysis and molecular RAPD-markers, the authors for the first time determined the phylogenetic relationships between different specimens of wild, primitive and cultivated *Beta* L. from world collection of the N.I. Vavilov All-Russian Scientific Research Institute of Plant Growing (VIR). On the basis of electrophoresis data, by means of UPGMA method the tested samples were clustered and phylogenetic trees created. The obtained data suggest the phylogenetic division of *Beta* L. genus, which have been proposed by V.I. Butrenin in 1983, and indicate an accuracy of this classification.

*Адрес сайта журнала в Интернете — [www.agrobiology.ru](http://www.agrobiology.ru)*  
*Статьи, события, информация — 7000 просмотров за месяц*  
*73 % — посетители из России, около 7 % — из США и Канады,*  
*20 % — из других стран*

**Новые книги**

Александрова Э.А., Гайдукова Н.Г. **Аналитическая химия. Теоретические основы и лабораторный практикум.** В 2-х книгах. Кн. 1. М.: изд-во «КолосС», 2011, 549 с.

Представленный материал соответствует современному развитию аналитиче-

ской химии. Изложены теоретические основы качественного анализа, гравиметрического и титриметрического методов. Описаны практические работы, в том числе с компьютерным моделированием титриметрического анализа, и возможности его применения в агроэкологическом мониторинге.