



БИОМИКА/BIOMICS

<http://biomics.ru>



МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ВИДОИДЕНТИФИКАЦИИ ДИКОРАСТУЩИХ РАСТЕНИЙ

¹Нигматуллина Н.В., ²Кулуев А.Р., ^{1,2}Кулуев Б.Р.

¹Башкирский государственный университет, 450076, Уфа, ул. Заки Валиди, 32, nnurya98@gmail.com

²Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук, 450054, Уфа, Проспект Октября, 71, kuluev@bk.ru

Резюме

Видоидентификация и оценка внутривидового генетического полиморфизма являются важнейшими задачами не только современной генетики растений, но и науки о растениях в целом. Для решения этих задач было разработано большое число разнообразных методов поиска и исследования таксономически значимых участков ДНК, которые получили название молекулярных или ДНК-маркеров. Данный обзор посвящен рассмотрению наиболее популярных методов изучения ДНК-маркеров дикорастущих растений с использованием технологий полимеразной цепной реакции (ПЦР), ДНК-чипирования и секвенирования. Из методов, основанных на ПЦР, наибольшее распространение получили ISSR, RAPD, SSR, AFLP, IRAP и REMAP, причем эти методы применяют как для оценки генетического разнообразия, так и при видоидентификации. Более эффективным для изучения внутривидового полиморфизма является SNP-анализ, который обычно проводится методом ДНК-чипирования. Стремительный рост исследований связанных с SNP-анализом говорит о том, что эта группа методов в скором времени, возможно, полностью вытеснит классические методы ПЦР-фингерпринтинга. Для видоидентификации дикорастущих растений довольно эффективен метод секвенирования вариабельных таксономически значимых фрагментов ДНК. Для этого чаще всего применяют хлоропластные маркеры *rpoB*, *rpoC1*, *rbcL*, *matK*, *psbK-psbI*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH* и ядерные маркеры ITS1 и ITS2. Ни один из этих маркеров не претендует на универсальность, поэтому при филогенетических построениях используют одновременный анализ нескольких ДНК-маркеров, причем вспомогательную роль при этом могут выполнять методы ПЦР-фингерпринтинга. Полногеномное секвенирование вместе с компьютерным анализом полученных данных при условии уменьшения стоимости и трудоемкости в будущем могут заменить все современные методы оценки генетического полиморфизма, основанные на ПЦР и ДНК-чипировании, а также все методы видоидентификации, использующие метод секвенирования таксономически значимых хлоропластных и ядерных маркеров.

Ключевые слова: молекулярные маркеры, ДНК-маркеры, генетический полиморфизм, видоидентификация, фингерпринтинг, ISSR, RAPD, SSR, AFLP, IRAP, REMAP, хлоропластные маркеры, ITS

Цитирование: Нигматуллина Н.В., Кулуев А.Р., Кулуев Б.Р. Молекулярные маркеры, применяемые для определения генетического разнообразия и видоидентификации дикорастущих растений. *Биомика*. 2018. Т10(3). С. 290-318. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-39

MOLECULAR MARKERS USED TO DETERMINE THE GENETIC DIVERSITY AND SPECIES IDENTIFICATION OF WILD PLANTS

¹Nigmatullina N.V., ²Kuluev A.R., ^{1,2}Kuluev B.R.

¹Bashkir State University, Ufa, 32 Zaki Validi str., nnurya98@gmail.com

²Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Prospect Oktyabrya 71, kuluev@bk.ru

Resume

The species identification and evaluation of intraspecific genetic polymorphism are the most important tasks of modern plant genetics. To solve these problems, a large number of various methods of searching and studying of taxonomically significant DNA fragments were developed, which are called molecular or DNA markers. This review is devoted to the most popular methods for studying DNA markers of wild plants based on the use of polymerase chain reaction (PCR), DNA microarray and sequencing technologies. Among the PCR based methods ISSR, RAPD, SSR, AFLP, IRAP and REMAP have been most widely used, and these methods are used for both genetic diversity assessment and species identification. More effective for studying intraspecific polymorphism is the SNP-analysis, which is usually carried out by the DNA microarray. The rapid growth of research related to SNP analysis suggests that this group of methods will soon probably completely replace the classical methods of PCR fingerprinting. For the species identification of wild plants, the method of sequencing of variable taxonomically significant DNA fragments is quite effective. To this end, chloroplast markers *rpoB*, *rpoC1*, *rbcL*, *matK*, *psbK-psbI*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH* and nuclear markers ITS1 and ITS2 are most often used. None of these markers is not universal, however when using phylogenetic simultaneous analysis of multiple DNA markers, and wherein the supporting role can perform PCR fingerprinting techniques. Whole genome sequencing and computer analysis of the data, if their cost and complexity will reduce in the future, could replace all current PCR- and DNA-microarray-based methods of assessing the genetic polymorphism.

Keywords: molecular markers, DNA markers, genetic polymorphism, species identification, fingerprinting, ISSR, RAPD, SSR, AFLP, IRAP, REMAP, chloroplast markers, ITS

Citation: Nigmatullina N.V., Kuluev A.R., Kuluev B.R. Molecular markers used to determine the genetic diversity and species identification of wild plants. *Biomcs*. 2018. V.10(3). P. 290-318. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-39

Введение

Дикорастущие растения составляют основу биологических ресурсов, как России, так и всего мира. Стратегической задачей любой страны является сохранение этого биологического разнообразия растений. Многие экономически развитые страны выделяют большие финансовые средства для сохранения генетических ресурсов и видового разнообразия дикорастущей флоры, однако этого пока нельзя сказать про современную Россию, где данному вопросу уделяется недостаточное внимание.

Из-за разнообразия климатических зон, как за счет широтной зональности, так и высотной поясности в Республике Башкортостан (РБ) произрастает большое видовое разнообразие растений, среди которых имеются редкие, эндемичные и реликтовые [Федоров и др. (Fedorov et al.), 2012; Байрамгулова и др. (Bairamgulova et al.), 2012; Тухватуллина и др. (Tuhvatullina et al.), 2017]. Значение дикорастущих растений для природы трудно переоценить, тем более, что многие из них к тому же являются хозяйственно-ценными ресурсными видами, а также могут быть использованы для доместикации и окультуривания. Современная систематика дикорастущих растений в России основана преимущественно на классических методах ботаники, тогда как генетические методы в нашей стране и, в частности, в нашем регионе для этого применяются нечасто. В связи с этим является актуальным проведение генетических исследований

видового разнообразия и генетического полиморфизма видов и популяций в РБ с использованием различных ДНК-маркеров, которые также известны под названием молекулярно-генетических маркеров (МГМ). Анализ МГМ для определения полиморфизма различных участков геномной ДНК может помочь в выявлении внутривидового генетического разнообразия, оценки гетерозиготности, реконструкции филогенетических взаимоотношений между видами и пространственных взаимосвязей между популяциями. МГМ играют огромную роль в изучении наследования генов и их аллельного состояния, используются для анализа генетического полиморфизма и филогенетических отношений между видами, популяциями и отдельными индивидами, а также с целью выявления маркеров, тесно сцепленных с генами, контролирующими хозяйственно ценные признаки растений. В настоящее время существует огромное количество различных типов молекулярных маркеров, и их число постоянно увеличивается вместе с совершенствованием современных технологий и ростом знаний об отдельных генах и геномах растений в целом [Mohan et al., 1997; Хлесткина, Салина, (Khlestkina, Salina), 2006; Semagn et al., 2006; Henry, 2013; Pocza et al., 2013; Salgotra et al., 2014].

Огромное количество ДНК-маркеров ставит перед исследователями проблему рационального подбора оптимального варианта. Наиболее важные критерии для выбора МГМ:

1. Универсальность; к примеру, праймер, который можно использовать для амплификации и секвенирования не только близкородственных видов, но и представителей других таксонов растений. Представляют большой интерес праймеры, которые можно применять для разных групп организмов. В то же время отрицательной стороной универсальности праймеров может являться увеличение вероятности контаминации в лабораториях.

2. Степень перекрытия и качество выполнения; генетических локусов огромное количество, поэтому нужно обозначить какие из них наиболее выгодны для подбора праймеров. Значение неоднозначности прочтения должно быть минимизировано, в идеале отсутствовать.

3. Способность различать виды; необходимо знать, какие локусы позволяют идентифицировать максимальное число видов. Наилучшая ситуация, когда междвидовой полиморфизм выше внутривидового, а особи одного вида группируются отдельно от особей других видов [Матвеева и др. (Matveeva et al.), 2011].

Совокупность методов анализа генетического полиморфизма биологических объектов с использованием ДНК-маркеров называется ДНК-фингерпринтингом. В качестве молекулярных маркеров при изучении растений часто используют различные повторяющиеся последовательности геномов. Среди tandemно организованных повторяющихся последовательностей наиболее полиморфными являются минисателлитные, микросателлитные последовательности и ретротранспозоны. В целом все подходы по генетическому анализу дикорастущих растений основаны на четырех базовых методах: рестрикционный анализ (RFLP), ПЦР (RAPD, ISSR, AFLP, IRAP и др.), ДНК-чипы (SNP) и секвенирование. Благодаря дешевизне, простоте и большой информативности, на сегодняшний день наиболее широкое распространение получили методы, основанные на ПЦР [Сухарева, Кулуев (Sukhareva, Kuluev), 2018]. Однако для анализа дикорастущей флоры наибольшую ценность представляют молекулярные маркеры, пригодные для видоидентификации растений, к каковым относят ряд вариабельных участков хлоропластного и ядерного геномов, фланкированные консервативными участками [Матвеева и др. (Matveeva et al.), 2011]. Эти участки секвенируют и путем сравнения их нуклеотидных последовательностей при помощи различных компьютерных программ делают выводы о родстве растений.

ДНК-маркеры, применяемые для генетического анализа растений, ранее уже

рассматривались в русскоязычной литературе, однако они чаще всего посвящались исследованиям культурных растений [Хлесткина (Khlestkina), 2013] или же отдельных групп дикорастущих растений [Калько (Kalko), 2015]. После опубликования этих и других обзорных статей прошло более трех лет, поэтому мы решили снова сосредоточить внимание заинтересованных специалистов на этом вопросе. Целью данного обзора является рассмотрение некоторых методов выявления ДНК-маркеров, которые могут быть использованы для видоидентификации и анализа генетического полиморфизма популяций дикорастущих растений. Рассматриваются также некоторые примеры успешного применения этих методов при исследовании растений.

ISSR-анализ (микросателлитное праймирование)

Пожалуй, наиболее часто используемым в России методом генетического анализа дикорастущих растений является ISSR (Inter Simple Sequence Repeat), основанный на микросателлитном праймировании [Бобошина (Boboshina), 2012]. Этот метод начал развиваться с 1994 года, и в настоящее время получил широкое распространение в исследованиях генофондов различных видов растений, для картирования геномов и маркирования хозяйственно важных признаков [Manninen et al., 2000]. ISSR-маркеры относятся к маркерам доминантного типа наследования. В основе метода ISSR лежит анализ амплифицированных полиморфных участков ДНК между микросателлитными повторами. Нуклеотидный состав «якоря» должен отличаться от повторов микросателлита и не служить его аналогичным продолжением. Праймеры ISSR состоят из фрагмента микросателлитного локуса (ди- или тринуклеотидного, чаще всего) и 1–2 «якорных» нуклеотидов на одном из флангов повтора. Праймер состоит из tandemных повторов, например, 5'-AC AC AC AC AC AC AC G, и на 3'-конце имеется один селективный нуклеотид [Боронникова (Boronnikova), 2009]. Такие праймеры позволяют амплифицировать уникальные последовательности ДНК, которые могут быть проанализированы при помощи агарозного гель-электрофореза (рис. 1). Номенклатура ISSR-праймеров весьма обширна, к примеру, довольно широкое распространение получили праймеры: M1, M3, M27, X10, X11 [Бобошина (Boboshina), 2012]. В одном исследовании с помощью праймера M3 были выявлены самые низкие значения полиморфизма в популяциях, а при помощи праймера X11 – самые высокие [Боронникова и др. (Boronnikova et al.), 2010]. После проведения ISSR-ПЦР в результате анализа на

электрофореграмме образуется так называемый ISSR-фингерпринт, который выглядит как сочетание дискретных полос ДНК на геле [Грушецкая и др. (Grushetskaya et al.), 2013]. ISSR-фингерпринт довольно хорошо воспроизводится, потому что последовательность праймера строго специфична, за счет чего достигается довольно высокий уровень специфического отжига. Однако проблема «сильных» и «слабых» ампликонов, как и в случае других ДНК-маркеров, основанных на методе ПЦР, остается [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018b]. В литературе подчеркивается необходимость более строгого подбора последовательностей ISSR-праймеров и использования в анализе только «ярких» продуктов ISSR-амплификации [Manninen et al., 2000]. Отжигаются ISSR-праймеры при амплификации только с одного конца матричной ДНК, поэтому получаемые фрагменты локализуются между инвертированными микросателлитами [Боронникова (Boronnikova), 2009].

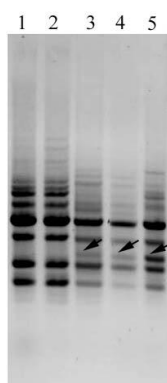


Рис. 1. Результаты ISSR-анализа ДНК тладианты сомнительной *Thladiantha dubia* с использованием праймера HB14 (CTCTCTCTCTCTCTTG). 1 и 2 – образцы ДНК инвазионной популяции тладианты из Республики Башкортостан. 3, 4, 5 – образцы ДНК природной популяции тладианты из Приморского края. Черными стрелками на рисунке отмечен выявленный полиморфный locus между образцами естественной и инвазионной популяции *T. dubia* [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018d].

Fig. 1. Results of ISSR analysis of DNA probes of *Thladiantha dubia* using primer HB14 (CTCTCTCTCTCTCTTG). 1 and 2 - DNA samples of the invasive population of *T. dubia* from the Republic of Bashkortostan. 3, 4, 5 - DNA samples of the natural population of *T. dubia* from the Primorsky Krai. The black arrows in the figure indicate the identified polymorphic locus between the samples of the natural and invasive *T. dubia* population [Kuluev et al., 2018d].

Результаты ISSR-анализа оценивают с использованием бинарной матрицы, в которой

значения 1 и 0 указывают на наличие или отсутствие продукта, соответственно. Генетические отношения оцениваются с использованием анализа кластеров UPGMA (невзвешенный парный метод с арифметическим средним), основанный на индексах генетического подобия. Для построения дендрограммы применяют метод UPGMA с использованием программы TREECON (version 1.3b) [Van De Peer, 1994], а также кластерный анализ невзвешенного кластирования с арифметическим методом средних в программе NTSYS2.10 [Reddy et al., 2000; Rohlf, 2001; Prazak, Paczos-Grzęda, 2017; Mahatma et al., 2017]. Различия в этих программах заключаются в использовании метода вычисления.

Важным преимуществом ISSR-метода является то, что нет необходимости в предварительном знании нуклеотидной последовательности ДНК, что позволяет работать с одними и теми же праймерами с широким кругом видов растений. По сравнению с другими методами генетического анализа, основанными на ПЦР, для ISSR характерна улучшенная воспроизводимость за счет удлинения и повышения температуры отжига праймера. Причем изменчивость набора ISSR-ампликонов зависит только от времени расхождения между организмами. В таблице 1 представлены последовательности некоторых ISSR-праймеров, нашедших применение при генетическом анализе растений.

В литературе имеется большое количество примеров успешного применения ISSR-маркеров на практике. Этот подход применялся для изучения полиморфизма дикорастущих растений, таких как *Calluna vulgaris* и *Polypodium vulgare* [Грушецкая и др. (Grushetskaya et al.), 2013]. Был найден ISSR-маркер K-16, который может быть использован для поиска пол-специфичных последовательностей на дикорастущем двудомном растении *Humulus japonicus*. Высокая эффективность маркера на ранних этапах онтогенеза подтверждается тем, что на мужских растениях происходила стабильная амплификация фрагмента размером около 300 п.н., а на женских амплификация полностью отсутствовала [Александров и др. (Aleksandrov et al.), 2011].

Новый способ записи и компоновки молекулярно-генетической формулы базируется на обнаружении идентификационных (общих) молекулярных маркеров с использованием ISSR метода анализа полиморфизма ДНК, который охватывает значительную часть генома растений, и может быть полезен для генетической паспортизации редких дикорастущих растений, таких как *Adonis vernalis*, *Digitalis grandiflora*, *Adenophora lilifolia* [Боронникова (Boronnikova), 2009].

Таблица 1.

Примеры последовательностей некоторых ISSR-праймеров, применяемых при генетическом анализе дикорастущих растений [по Prażak, Paczos-Grzęda, 2017; Ebadi, Eghbali, 2017; Liu et al., 2017].

Table 1. Examples of some ISSR primers used in the genetic analysis of wild plants [Prażak, Paczos-Grzęda, 2017; Ebadi, Eghbali, 2017; Liu et al., 2017].

Название праймера Primer name	Последовательность Sequence	Размер фрагментов (пн) Size of DNA fragments (bp)
ISSR1	(AG) ₈ G	480-1380
ISSR6	(GT) ₈ C	450-1800
ISSR11	(AC) ₈ G	330-1800
ISSR14	(GA) ₇ YG	120-1600
ISSR16	(GA) ₈ C	280-1800
ISSR17	(GA) ₈ YC	220-1250
ISSR22	(CA) ₈ G	430-1800
ISSR23	(CA) ₈ GC	280-1030
ISSR27	(TC) ₈ G	420-1700
ISSR28	(TG) ₈ G	380-1600
ISSR33	(AG) ₈ T	260-1370
ISSR34	(TC) ₈ CC	540-2600
ISSR35	(TC) ₈ CG	680-2600
ISSR36	(AC) ₈ CG	380-2600
ISSR37	(AC) ₈ C	290-1350
ISSR38	(CT) ₈ G	430-1700
RAMP-TAG	T(AG) ₉	250-1800
RAMP-GAC	G(AC) ₉	350-2100
LK7	CCA(CT) ₈	400-1600
HB-10	(GA) ₆ CC	250-1700
(CA) ₇ Y	(GCT)(AGT)(GCT)(CA) ₇ Y	280-1850
(TG) ₇ Y	(CAT)(GCA)(CAT)(TG) ₇ Y	350-1600
(TG) ₇	(GCA)(CAT)(GCA)R(TG) ₇	300-2000
(GT) ₈	(GT) ₈ (A/G)Y	250-1800
TCC	(GT) ₈ (A/G)TCC	350-1500
(CA) ₇	(GAT)(GCT)(GAT)(CA) ₇	440-1700

На основе ISSR-маркера был проведен компьютерный анализ молекулярно-генетического полиморфизма ДНК у *Adonis sibirica* с определением доли полиморфных локусов, общего числа аллелей, эффективного числа аллелей, ожидаемой гетерозиготности [Боронникова (Boronnikova), 2010].

Анализ информативности ISSR-маркеров оказался применим при исследовании как внутривидового, так и межвидового генетического полиморфизма дикорастущих растений, таких как *Trollius europaeus*, *Salvia sclarea* и других. Кластерный анализ генетических дистанций между видами, который был получен, базируясь на оценке полиморфизма по ISSR-маркерам, подтвердил современные представления о филогенетических взаимоотношениях между изученными видами [Грушецкая и др. (Grushetskaya et al.), 2013].

Довольно часто в ходе исследований выясняется, что некоторые ISSR-праймеры больше подходят для генетического анализа популяций, тогда как другие могут быть полезны для изучения межвидовых взаимосвязей [Костюкова и др. (Kostyukova et al.), 2013]. В литературе также предлагается использование метода ISSR для генетической паспортизации дикорастущих растений [Новикова и др. (Novikova et al.), 2012]. В целом, метод ISSR-анализа получил довольно широкое распространение в России и применялся также для анализа генетической гетерогенности популяций инвазивных сорных растений [Гуи и др. (Gui et al.), 2009; Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018d], древесных растений [Светлакова и др. (Svetlakova et al.), 2012; Нечаева и др. (Nechaeva et al.), 2014; Пришнинская и др. (Prisninskaya et al.), 2016; Янбаев и др. (Yanbaev et al.), 2017], ценных лекарственных растений [Реунова и др. (Reunova et al.), 2010], для генетической дифференциации соматоклонов с повышенной продукцией ценных биологически активных веществ в культуре *in vitro* [Спиридович и др. (Spiridovich et al.), 2012], для оценки генетического полиморфизма крымской популяции каучуконосного растения одуванчика осеннего [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018a], а также мутантных форм растений после проведенного химического мутагенеза [Баймухаметова и др. (Baimuhametova et al.), 2017].

RAPD-анализ (случайное праймирование)

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) - полимеразная цепная реакция, основанная на использовании одного, обычно декануклеотидного праймера с произвольной нуклеотидной последовательностью [Williams et al., 1990].

Методика RAPD включает:

1. Экстракцию высокочистой тотальной ДНК, при этом требования к качеству ДНК более

высокие, чем при обычной ПЦР. Для растений чаще всего используют методы выделения ДНК при помощи ЦТАБ (цетил-триметиламмоний бромид) из высушенного материала [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018a].

2. Добавление в смесь единственного произвольного праймера. Хотя возможны варианты с использованием нескольких RAPD-праймеров в одной реакции (multiplex RAPD-PCR).

3. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР).

4. Разделение ПЦР-фрагментов гелем электрофорезом (рис. 2). Чаще всего используют 1,5-1,7% агарозный гель.

5. Визуализацию RAPD-спектра после окрашивания этидиум бромидом под ультрафиолетовым светом трансиллюминатора.

6. Определение размеров RAPD-фрагментов по сравнению с известным молекулярным маркером с помощью программного обеспечения для анализа геля [Karp et al., 1997].

Маркеры данного метода представляет собой продукты амплификации случайных последовательностей ДНК ограниченных произвольными олигонуклеотидными праймерами (табл. 2). Как и при ISSR в RAPD-методе чаще всего используется один праймер, то есть предполагается, что этот праймер отжигается во многих участках ДНК на комплементарных цепях. Количество амплифицированных фрагментов зависит от распределения и количества участков отжига по

всему геному. Случайные ПЦР-продукты затем легко обнаруживаются на агарозном геле (рис. 2), и результирующая картина также как при ISSR представляет собой фингерпринт [Marwal, Gaur, 2014]. Важным моментом метода является подбор оптимальной температуры отжига, которая обычно варьирует в пределах от 30 до 40°C. Например, была проведена работа с RAPD-праймерами под условными названиями: Oligo 1, Oligo 2, Oligo 4, Oligo 6, Oligo 12 и Oligo 29. Оптимальные температуры отжига праймеров подбирались при помощи программы Oligo.net (Molecular Biology Insights, Inc). Размер RAPD-ампликонов в результате проведенной работы варьировал от 170 до 2800 п.н. [Калаев (Kalaev), 2012]. Также бывают случаи и неспаренности матрицы и праймера, что приводит к отсутствию ПЦР-продуктов или к слабой амплификации [Сулимова (Sulimova), 2004]. Решением этой проблемы может быть не только снижение температуры отжига (что часто нежелательно из-за возможного снижения специфичности), но и использование полуслучайных праймеров. Эти праймеры состоят из двух частей: 5'-конец комплементарен интрон-экзонной границе, 3'-конец имеет случайную последовательность. За счет консервативной части увеличивается длина праймера, что повышает воспроизводимость метода [Gawel et al., 2002; Матвеева и др. (Matveeva et al.), 2011].

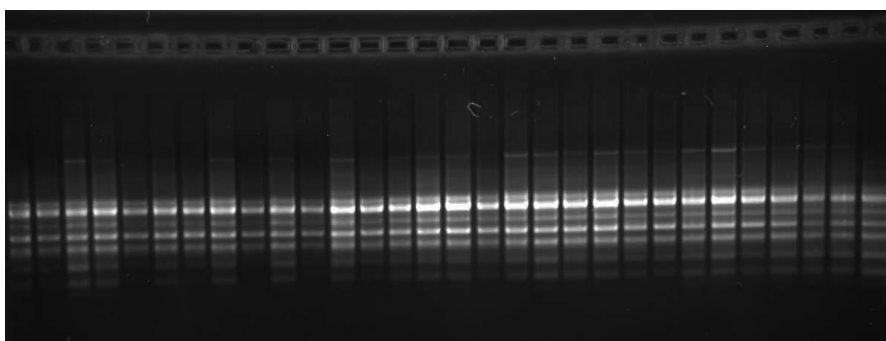


Рис. 2. Результаты проведенного нами RAPD-анализа ДНК популяций водяного ореха *Trapa sibirica* из озер Упканкуль и Бильгиляр Республики Башкортостан с использованием праймера OPC-06 (5'-GAACGGACTC-3').

По результатам RAPD-анализа между исследуемыми популяциями генетический полиморфизм не выявлен.

Fig. 2. The results of the RAPD analysis of DNA of water caltrop *Trapa sibirica* from Lakes Upkankul and Bilgilyar of the Republic of Bashkortostan using primer OPC-06 (5'-GAACGGACTC-3'). According to the results of RAPD analysis between the studied populations, genetic polymorphism was not detected.

Метод RAPD при всей своей простоте имеет ряд, как преимуществ, так и недостатков. Преимущества метода RAPD:

1. Высокая произвольная выборка.
2. Можно обнаружить неограниченное число локусов [Marwal, Gaur, 2014].
3. Относительная дешевизна.

4. Быстрота анализа [Алтухов, Салменкова (Altuhov, Salmenkova), 2002].

5. Информация о нуклеотидной последовательности не нужна [Кочиева, Оганисян (Kochieva, Oganisyan), 2000; Matveeva et al., 2003; Сулимова (Sulimova), 2004; Календарь, Глазко (Kalendar, Glazko), 2002].

Недостатки метода RAPD:

1. Проявление доминантных аллелей, которые затрудняют интерпретацию мультилокусов [Marwal, Gaur, 2014].

2. Высокая чувствительность к изменениям условий окружающей среды [Алтухов, Салменкова (Altuhov, Salmenkova), 2002].

3. ДНК у всех образцов должна быть выделена одним и тем же стандартным методом в одинаковых условиях из одних и тех же тканей. Сообщается, к примеру, что выявлен генетический полиморфизм в RAPD-спектрах плавающих листьев и подводных органов одного и того же растения водяного ореха *Trapa natans* [Bitonti et al., 1996].

RAPD-анализ, также как и ISSR, получил широкое распространение при генетическом анализе дикорастущих растений. RAPD-маркеры были использованы для оценки генетической гетерогенности 23 растений одного клона *Populus deltoides*. Это исследование подтвердило возможность использования RAPD метода для получения быстрой и точной информации о генетическом сходстве или различии [Rani et al., 1995]. Для определения молекулярно-генетических различий у *Orobanchе cumana* из популяций различной географической локализации использовали реакции с 26 RAPD праймерами. Данный молекулярный маркер оказался подходящим для изучения меж- и внутривидовой изменчивости *O. cumana* из регионов южной части Российской Федерации [Гучетль (Guchetl), 2013].

При помощи RAPD-маркеров были произведены вычисления основных показателей уровня генетического разнообразия растений из четырех локальных мест произрастания *Arabidopsis thaliana* на острове Валаам, а также обнаружен повышенный уровень его генетического разнообразия по сравнению с другими самоопыляющимися видами растений [Зарецкая (Zaretskaya), 2016]. При помощи RAPD-метода было показано разделение *Deschampsia antarctica* на две группы в соответствии с географическим происхождением [Андреев (Andreev), 2010]. Был проведен RAPD-анализ четырех диплоидных видов пшениц, который показал, что *Triticum sinskajae* более близок к *T. monosocum*, однако эти растения, вероятнее всего, являются разными видами [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018c]. RAPD-анализ также использовали для оценки генетического разнообразия популяций женьшеня [Реунова и др. (Reunova et al.), 2010], водяного ореха *Trapa natans* [Kachare et al., 2013], ферулы вонючей *Ferula foetida* [Сагындыкова и др. (Sagindykova et al.), 2016].

Таблица 2.

Примеры последовательностей некоторых RAPD-праймеров, применяемых при генетическом анализе дикорастущих растений [по Awasthi et al., 2004; Nimbal et al., 2009; Liu et al., 2017].

Table 2. Examples of sequences of some RAPD primers using in the genetic analysis of wild plants [Awasthi et al., 2004; Nimbal et al., 2009; Liu et al., 2017]

Название праймера Primer name	Последовательность Sequence
OPC-01	TTTCGAGCCAG
OPC-05	GATGACCGCC
OPC-11	AAAGCTGCGG
OPD-07	TTGGCACGGG
OPD-15	CATCCGTGCT
S4	GGACTGGAGT
S6	TGCTCTGCC
S7	GGTGACGCAG
S8	GTCCACACGG
S10	CTGCTGGGAC
S11	GTAGACCCGT
S13	TTCCCCCGCT
S17	AGGGAACGAG
S22	TGCCGAGCTG
S23	AGTCAGCCAC
S24	AATCGGGCTG
S48	GTGTGCCCCA
S58	GAGAGCCAAC
S68	TGGACCGGTG
S70	TGTCTGGGTG
S75	GACGGATCAG
S96	AGCGTCCTCC
S121	ACGGATCCTG
S123	CCTGATCACC
S154	TGCGGCTGAG
S183	CAGAGGTCCC
S245	TTGGCGGCCT
S283	ACAGCCTGCT
S287	AGAGCCGTCA
S295	AGTCGCCCTT
S297	GACGTGGTGA
S303	TGGCGCAGTG
S340	ACTTTGGCGG
S417	TCAGTCCGGG
S476	CCAAGCTGCC
S488	CTCCAGCGGA
S1019	GGCAGTTCTC
S1505	CCCAC TAGAC
S1510	ACTGCCCCGAC
S1515	TTACGGTGGG
S1516	CCTGCCGACAG
S1519	AGCCTCGGTT
S1520	TGCGCTCCTC
S1521	GTCTCGTCGG
S1522	AACGTACGCG

Используя метод RAPD нам ранее удалось дифференцировать инвазионные популяции *Thladiantha dubia* в Республике Башкортостан от растений, произрастающих на естественных

местообитаниях Приморского края [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018d]. Методом RAPD-анализа было показано, что генетическая изменчивость дуба влияет на компоненты приспособленности паразитов этого вида [Симчук и др. (Simchuk et al.), 2015]. RAPD был успешно использован для генетической дифференциации соматоклонов многоколосника морщинистого с повышенным накоплением фенольных соединений и флавонолов в условиях *in vitro* [Спиридович и др. (Spiridovich et al.), 2012]. Таким образом, изучение RAPD-маркеров может рассматриваться как один из универсальных и дешевых методов оценки генетического разнообразия любых биологических объектов. В то же время по нашим наблюдениям, RAPD-спектры между разными видами довольно сильно различаются, тогда как внутри вида полиморфизм, в зависимости от праймера, вовсе может не выявляться. К примеру, при исследовании крымской популяции одуванчика осеннего нам не удалось выявить внутривидового генетического полиморфизма при использовании метода RAPD-ПЦР [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018a].

AFLP-анализ

AFLP (или AFLP-PCR — Amplified Fragment Length Polymorphism PCR — полиморфизм длин амплифицированных фрагментов) был разработан для ДНК-фингерпринтинга в начале 90-х годов XX века [Zabeau, Vos, 1993]. В его основе лежит случайное расщепление тотальной ДНК парой рестрикционных эндонуклеаз, одна из которых - частощепляющая (с тетра-нуклеотидным сайтом узнавания), а другая — редкощепляющая (с гексануклеотидным сайтом узнавания), сопровождаемое амплификацией с помощью ПЦР лишь некоторой части образующихся рестрикционных фрагментов [Vos et al., 1995]. Таким образом, AFLP-анализ основан на селективной амплификации продуктов рестрикции ДНК (рис. 3). Так как продукты анализа разделяются в полиакриламидных гелях, этот метод имеет высокую разрешающую способность и может помочь выявить большее количество локусов, в том числе полиморфных, в сравнении с маркерами, анализируемыми в агарозных гелях (RAPD и ISSR). На разрешающую способность AFLP метода влияет система детекции фрагментов [Реунова (Reunova), 2010].

Методика AFLP включает следующие стадии:

1. Экстракция высокоочищенной ДНК.

2. Расщепление анализируемой ДНК рестрикционными эндонуклеазами (обычно смесь ферментов, например, *EcoRI* + *MseI*).

3. Лигирование адаптеров.

4. пре-ПЦР (амплификация рестрикционных фрагментов, предварительная селективная амплификация с праймером *EcoRI* + A и *MseI* primer + C).

5. Селективная ПЦР с мечеными праймерными (радиоактивные или флуоресцентные) парами (праймер + 3 пары оснований, прямой меченный, обратный немеченный).

6. Гель-электрофорез в полиакриламидном геле или разделение фрагментов при помощи автоматического капиллярного секвенатора [Romero et al., 2007]. Электрофореграммы можно анализировать с помощью такой программы, как GeneMapper.

После электрофореза в полиакриламидном геле получают высокоинформативную картину, состоящую из полос ДНК, число которых варьирует от 40 до 200.

Причины, по которым разные биологические образцы оказываются полиморфными:

1. Мутации в сайтах рестрикции.

2. Мутации в последовательностях, прилегающих к сайтам рестрикции.

3. Вставки или делеции в амплифицированных фрагментах [Savelkoul et al., 1999].

В литературе имеются многочисленные сведения о большей информативности AFLP перед RAPD и ISSR. Так, показано, что AFLP-маркеры более перспективны, чем RAPD и ISSR для характеристики генетической структуры и генетических связей популяций женьшеня [Реунова и др. (Reunova), 2010].

Основные преимущества AFLP:

1. Достаточно широкий спектр фрагментов ДНК, подлежащих анализу в результате эксперимента. При этом доля полиморфных фрагментов является существенной [Сулимова (Sulimova), 2004; Календарь, Глазко (Kalendar, Glazko), 2002].

2. В отличие от RAPD метод AFLP высоковоспроизводимый, поскольку он сочетает рестрикционное расщепление и ПЦР.

3. Является многолокусной системой, так как праймеры одновременно связываются со многими различными частями генома, что приводит к выявлению многих локусов [Arif et al., 2011].

Недостатки AFLP:

1. Требуется больше ДНК (300-1000 нг на реакцию) и является более технически сложным методом, однако может быть автоматизирован [Romero, Adeva, 2007].

2. Требуется очищенная, высокомолекулярная ДНК.

3. Преобладание аллелей и возможная негомология перемещающихся фрагментов, принадлежащих разным локусам.

4. Из-за большого количества и разной интенсивности полос ДНК на комбинацию праймеров необходимо принять определенные строгие критерии в анализе [Vos et al., 1995].



Рис. 3. Общий вид AFLP-ПЦР.
Fig. 3. General view of AFLP-PCR.

Примером использования изучения генетической изменчивости с использованием AFLP-маркеров является работа [Teyer et al., 2009], в которой описывается изучение диких популяций агавы живородящей *Agave angustifolia* в пустыне, а именно изменчивости внутри и между природными популяциями. Маркеры AFLP широко применяются для филогенетического анализа и определения генетического разнообразия для сохранения исчезающих видов растений [Zawko et al., 2001, Ronikier et al., 2002]. AFLP-маркеры были также использованы как способ оценки родительского вклада в геном гибрида при искусственном скрещивании между *Saxifraga cernua* и *S. sibirica*. В результате проведенной работы было выяснено, что больший вклад был внесен *S. cernua*, чем *S. sibirica* [Дышмакова (Dyshmakova), 2012]. AFLP-анализ проводился для оценки вариации ДНК у растений *A. thaliana*, регенерированных органогенезом из корней, при этом подвергли анализу пятьдесят одно регенерированное растение с использованием 12 комбинаций [Polanco, 2002].

Было идентифицировано 17 AFLP-маркеров, специфичных для мужских растений *Humulus scandens*. Эти AFLP-маркеры могут служить как новые молекулярные зонды, которые можно

эффективно использовать для идентификации генетического пола *H. scandens* [Li et al., 2017]. Были выявлены AFLP-маркеры из шести популяций *Rhazya stricta* Кохат Платоу (Kohat Plateau) и изучены их вариации как внутри, так и среди популяций. Обе группы маркеров выявили более низкую генетическую дифференциацию среди популяций и более высокую генетическую дифференциацию внутри популяций [Gilani et al., 2014]. Метод AFLP может быть использован не только для определения генетического полиморфизма, но и для разрешения вопросов по видовой дифференциации. К примеру, разделение на отдельные виды в роде *Trapa* (водяной орех) остается до сих пор неразрешенной задачей [Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2017]. Путем AFLP-анализа была подтверждена дифференциация китайских популяций водяного ореха в бассейне реки Янцзы на три вида *T. quadrispinosa*, *T. japonica* и *T. bispinosa* [Li et al., 2017].

SSR-анализ

SSR (Simple Sequence Repeats — простые повторяющиеся последовательности) или STR (Short Tandem Repeats — короткие тандемные повторы). Последняя аббревиатура методики применяется в области изучения животных и человека. Сокращение SSR этого вида анализа применяется для растений [Сулимова (Sulimova), 2004]. Одним из распространенных примеров микросателлита является повторение, представленной на формуле (1):

$$(CA) \times n (1),$$

где n - переменная среди разных аллелей.

Эти маркеры часто дают высокий уровень меж- и внутривидового полиморфизма, особенно когда число тандемных повторов составляет 10 или больше [Queller et al., 1993]. Повторяющаяся последовательность часто бывает простой, состоящей из двух, трех или четырех нуклеотидов (ди-, три- и тетра-нуклеотидных повторов) и может повторяться многократно.

Микросателлиты могут быть амплифицированы для идентификации аллелей с помощью ПЦР с использованием уникальных последовательностей фланкирующих областей в качестве праймеров. Наиболее распространенным способом обнаружения микросателлитов является разработка ПЦР-праймеров, которые уникальны для одного локуса в геноме, и эта пара оснований локализована по обе стороны от повторяющейся части. Таким образом, одна пара ПЦР-праймеров будет производить продукты разного размера для каждого из разных микросателлитов (рис. 4). Продукты ПЦР разделяют либо обычным гель-электрофорезом, либо электрофорезом в капиллярном геле автоматического секвенатора.

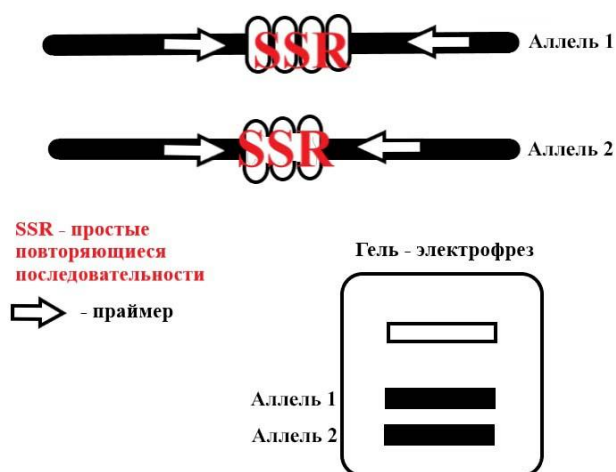


Рис. 4. Общий вид SSR-ПЦР.
Fig. 4. General view of SSR-PCR.

Преимущества метода:

1. Универсальность маркеров, особенно для популяционного анализа.
2. Простота и быстрота в использовании.
3. Есть возможность применения для близкородственных видов [Jarne et al., 1996].

Недостатки метода:

1. Необходимость знания последовательности генома для того, чтобы подобрать специфичный праймер [Blouin et al., 1996; Palombi, Damiano, 2002].
2. Подбор корректно функционирующего праймера - кропотливая и дорогостоящая процедура.
3. При применении праймеров на близкородственных видах, процент усиления локусов обратно пропорционален генетической дистанции [Jarne et al., 1996].

SSR-маркеры широко используются при генетических исследованиях дикорастущих растений. К примеру, в одном исследовании были использованы SSR-маркеры для определения генетической структуры ели *Abies ziyuanensis* [Tang et al., 2007]. Семь популяций, состоящих из 139 особей, были отобраны по всему их ареалу. Оказалось, что *A. ziyuanensis* имеет относительно низкий уровень генетической изменчивости со средним генетическим разнообразием на популяцию (He) 0,377 (SSR), которая ниже, чем у других эндемичных видов, исследованных на основе одного того же маркера. Для генетического анализа паразита *Orobanchе cumana* Wallr. было отобрано 10 SSR-праймеров, которые могут быть использованы для оценки меж- и внутривидовой изменчивости данного паразита [Гучетль и др. (Guchetl et al.), 2013]. Для генетического анализа кок-сагыза (*Taraxacum kok-saghyz*) на основе 16441 EST (от Expressed Sequence Tag) были подобраны 192 пары праймеров, из которых 48 подошли для определения однолокусного

полиморфизма [McAssey et al., 2016]. Теоретически наиболее надежные 17 пар праймеров были использованы для анализа 176 растений кок-сагыза из 17 популяций. Причем данные праймеры оказались эффективными и при анализе других видов рода *Taraxacum* [McAssey et al., 2016; Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018a].

Были также подобраны SSR-праймеры для сосны обыкновенной, двадцать четыре микросателлитных локуса из тридцати семи предложенных ранее показали стабильную амплификацию, причем данные маркеры относятся к типу EST-SSR, так как эти микросателлиты располагаются в транскрибируемой области генома [Калько (Kalko), 2017]. Другим примером схожей работы является исследование EST-SSR маркеров пачули *Pogostemon cablin*, однако в данном случае для их поиска и дальнейшего подбора праймеров использовались данные полногеномного секвенирования транскриптома этого растения. Причем авторам этой работы удалось идентифицировать 1144 EST-SSR локуса, были подобраны 192 пары праймеров и при исследовании 38 образцов из разных районов произрастания 45 EST-SSR оказались полиморфными и имели аллельные вариации от двух до четырех [Ouyang et al., 2018]. Такой же подход был использован для поиска SSR-локусов для лекарственного растения *Halenia elliptica*. Авторы данной работы испытали 126 пар праймеров, из которых 12 показывали полиморфизм при изучении 8 популяций данного вида [Yang et al., 2018]. Подобная работа была также проведена для *Astragalus membranaceus*, при этом авторам удалось сконструировать 19 пар праймеров, которые выявляли полиморфизм среди 20 растений, собранных из разных местообитаний [He et al., 2018].

Осока *Carex rigescens* является дикорастущим растением, которое распространено в засоленных районах Китая. Уровень экспрессии генов, кодирующих домены EF-hand, ZFP и AP2 у этого растения изменялся под влиянием солевого стресса, что свидетельствовало об их возможной связи с солеустойчивостью в *C. rigescens*. В работе Ming-na с соавт. [2018] было идентифицировано 11643 простых повторяющихся последовательностей (SSR) в уникальных генах, ассоциированных с солеустойчивостью. В общей сложности 144 SSR-локуса успешно амплифицировались в двух линиях *C. rigescens* и отражали полиморфизм между двумя проверенными генотипами [Ming-na et al., 2018].

Indigofera szechuensis является эндемичным видом для гор Hengduan в Китае. Его ареал ограничивается склонами, тропами и берегами рек. Этот вид может служить моделью для изучения адаптации растений. Были обнаружены

последовательности транскриптов и разработаны EST-SSR маркеры для эволюционного изучения этого вида растений. Было определено 4052 потенциальных сайтов SSR. Используя 102 случайно выбранных EST-SSRs, 73 маркера были успешно амплифицированы с ожидаемым размером в *I. szechuensis* и 67-71 маркеров SSRs у восьми других видов рода *Indigofera* [Li-Na et al., 2016]. Из недавно опубликованных статей следует упомянуть работу по изучению 27 микросателлитных локусов редкого кустарника *Amentotaxus argotaenia* (Taxaceae), из которых 23 оказались полиморфными, а 18 из них вполне применимыми на близком виде *A. yunnanensis* [Huang et al., 2018].

IRAP-анализ

Генетические маркеры, основанные на использовании ретротранспозонов, обладают хорошей воспроизводимостью результатов и достаточным полиморфизмом, недорогой стоимостью и меньшей трудоемкостью анализа по сравнению с другими высокоинформативными маркерными системами; их многочисленные преимущества дают возможность для использования этих маркеров в исследованиях растений [Мельникова (Melnikova), 2013]. IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) основан на обнаружении полиморфизма путем амплификации участка ДНК между двумя ретротранспозонами [Kalendar et al., 1999; Kalendar, Schulman, 2006].

IRAP можно проводить с помощью одного праймера, соответствующего либо 5'-, либо 3'-концу LTR (длинные концевые повторы ретротранспозонов), но ориентированного от самого LTR, или с двумя праймерами (рис. 5).

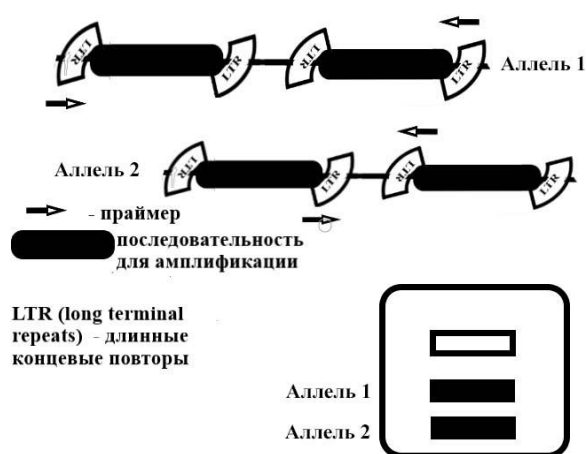


Рис. 5. Общий вид IRAP-ПЦР.
Fig. 5. General view of IRAP-PCR.

Увеличивается диапазон инструментов, доступных для обнаружения полиморфизма, который зависит от комбинации метода и праймера. Если используются два праймера, они могут быть из одного семейства ретротранспозонов или из разных семейств. Продукты ПЦР и, следовательно, фингерпринтов являются результатом амплификации от сотен до тысяч целевых сайтов в геноме.

Основным преимуществом IRAP является экспериментальная простота. Недостатком IRAP является необходимость знаний о последовательности генома.

Метод ПЦР с IRAP-маркерами также получил довольно широкое распространение при генетическом анализе дикорастущих растений. К примеру, были получены данные об уровне генетического разнообразия мятлика лугового *Poa pratensis*, произрастающего на экспериментальных нефтезагрязненных площадках, при этом снижение генетического разнообразия растений, произрастающих в условиях нефтяного загрязнения почв, с давностью загрязнения в 9 и 12 лет, не подтвердилось [Девятова (Devyatova), 2011].

IRAP-методом изучили полиморфизм ДНК и оценили генетическое разнообразие по 127 выявленным маркерам у шести популяций лекарственного вида *Adonis vernalis*, который является редким для Пермского края [Боронникова (Boronnikova), 2009]. Методика генетической паспортизации бубенчика лилиелистного *Adenophora lilifolia* на основе IRAP-анализа дает стабильно воспроизводимые результаты, характеризуется высоким уровнем стандартизации [Боронникова (Boronnikova), 2012]. IRAP-анализ также применяли при изучении межвидовых взаимоотношений в подсемействе Betuloideae [Roy et al., 2018], генетического разнообразия и динамики популяций пяти лекарственных видов растений рода *Eulophia* [Bhattacharyya, van Staden, 2018], марокканского дерева *Argania spinosa* [Pakhrou et al., 2017], маниока *Manihot esculenta* [Kuhn et al., 2016], диких видов фисташки *Pistacia* [Sorkheh et al., 2016].

REMAP-анализ

REMAP (Retrotransposon-Microsatellite Amplified Polymorphism) – полимеразная цепная реакция между праймером к фрагменту LTR-ретротранспозона и праймером из рядом расположенного, простого микросателлитного повтора (SSR-праймер). Является улучшенной версией IRAP. В данном случае позиция амплифицируемого фрагмента ретротранспозона «заякоривается» путем использования праймера к микросателлитному локусу. Например, у растений удобным оказывается использование праймера к LTR

и праймера к микросателлиту (5'-CA CA CA CA CA CA CA CA CA CA G) с единичным селективным нуклеотидом на 3'-конце праймера. В REMAP применяют варианты праймеров как для 5'-конца, так и для 3'-конца LTR. Последовательности праймеров к LTR подбираются из консервативных и концевых участков LTR. Большинство LTR на 5' и 3'-концах имеют консервативные последовательности, необходимые для ретротранспозиции (перемещения на другие участки генома). В основном праймеры подбираются к концам LTR таким образом, чтобы амплифицированные продукты были достаточно удобны для ПЦР и электрофореза (рис. 6). Возможно использовать праймеры к различным консервативным участкам LTR или центральной, кодирующей части ретротранспозона, поскольку в геномах присутствует большое количество неполноценных ретротранспозонных последовательностей, образованных, в частности, вследствие рекомбинации геномной ДНК [Kalendar et al., 1999, 2006].

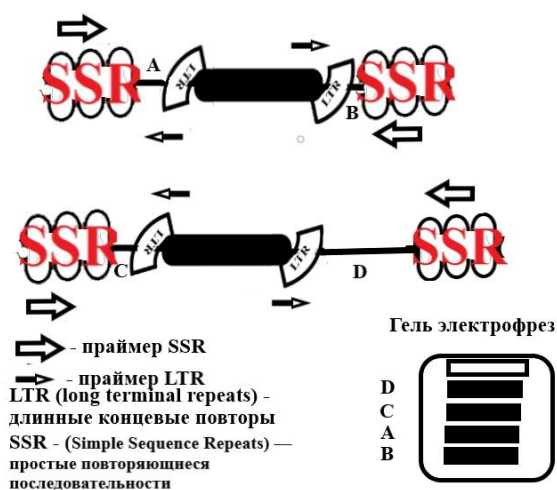


Рис. 6. Общий вид REMAP-ПЦР.
Fig. 6. General view of REMAP-PCR.

В зависимости от того, праймеры REMAP используются индивидуально или в комбинации, полосы на электрофорезе получают разными по размеру, что указывает на то, что большинство ДНК-фрагментов получены из последовательностей, граничащих с микросателлитом с одной стороны, и LTR - с другой (рис. 6).

Преимущества REMAP:

1. Относительная простота и потенциально очень большое количество комбинаций праймеров из различных ретротранспозонов и микросателлитов.
2. Потенциальная информативность (количество локусов и их полиморфизм) очень велика, потому что в геномах растений и животных

выявляют большее количество ретротранспозонов [Kalendar et al., 1999, 2006].

3. Не требует ни расщепления рестрикционными ферментами, ни лигирования для создания маркерных полос.

Недостатки REMAP:

1. Необходимость в информации о ретротранспозонной последовательности в анализируемом геноме.

2. Вероятность появления индивидуальных особенностей в расположении ретротранспозонов в зависимости не только от генотипа, но и внешних условий.

Примеров использования REMAP-анализа в растительной биологии довольно много. Как и в случае с другими растениями дикие виды миндаля *Prunus* могут служить материалом для генетической изменчивости культурных сортов. Было проанализировано 389 образцов 18 видов дикого миндаля с использованием разных маркеров. Наиболее предпочтительным оказался REMAP-маркер, который позволял выявлять Ty3- и Ty1-элементы в геноме миндаля. Поскольку транспонируемые элементы связаны с крупномасштабными изменениями генома, REMAP позволяет делать более надежные филогенетические выводы, чем AFLP, при котором гомоплазия может оказывать существенное влияние на кластеризацию [Sorkheh et al., 2017].

194 зародыша имбиря лекарственного (*Zingiber officinale*) были проанализированы с помощью 7 ISSR, 9 SSR, 6 IRAP-пар и 25 комбинаций праймеров REMAP. Разрешающая способность и индекс маркера были оценены максимальные в REMAP (5.24 и 4.18). Был сделан вывод, что REMAP и SSR являются маркерами выбора в оценке генетического разнообразия у имбиря [Pandotra et al., 2015].

Лилия ланцетолистная *Lilium lancifolium* в природе представлена, как диплоидными, так и триплоидными формами. При помощи REMAP-анализа 55 популяций Кореи, Японии и Китая было показано что географическое, цитологическое и генетическое разделение этих популяций не было связано с пloidностью. Авторы делают вывод о том, что современные генетические вариации линий произошли до географической дифференциации диплоидов и триплоидов [Nguyen et al., 2016].

При помощи REMAP-анализа также проводят оценку стабильности генома при возникновении аллополиплоидов. Имеются предположения, что при образовании таких растений стабильность генома может нарушаться и при этом увеличивается число ретротранспозонов в геноме. К примеру, этим методом были проанализированы

природные аллополиплоиды *Spartina anglica*, и было показано, что геном этих растений не претерпел существенных изменений после полиплоидизации [Baumel et al., 2002].

SSAP, R-BIP, TAM, ISBP

SSAP (Sequence-Specific Amplified Polymorphism) метод основан на амплификации ДНК между консервативным участком ретротранспозона (в частности, LTR-последовательностью) и ближайшим сайтом рестрикции эндонуклеазы рестрикции. Праймеры для амплификации подбираются к консервативной последовательности ретротранспозона и к специальному адаптеру, который лигируется к образованному под действием эндонуклеазы рестрикции концу ДНК [Waugh et al., 1997]. SSAP-анализ использовался, к примеру, для оценки генетического полиморфизма 18 видов дикого миндаля [Sorkheh et al., 2017], представителей рода *Aegilops* [Nagy et al., 2006], для исследований видообразования арктической горчицы *Draba nivalis* [Gustafsson et al., 2014], для оценки реструктуризации генома в четырех независимых аллотетраполиплоидных генотипах *Aegilops* [Senerchia et al., 2014].

Следующий метод, который основан на существовании полиморфных сайтов интеграции ретротранспозонов, является R-BIP (Retrotransposon-Based Insertional Polymorphism). Этот метод, который позволяет отличить гомозиготы от гетерозигот, основан на использовании праймеров к последовательностям ретротранспозонов. Он дает возможность исследовать кодоминантные аллельные варианты [Flavell et al., 1998]. Принцип метода основан на мультилокусной ПЦР, в которой используется пара праймеров, фланкирующих участок ДНК до сайта ретротранспозиции, и праймер к LTR-ретротранспозону, который встроен в данный участок между первыми двумя праймерами. В результате ПЦР будет амплифицироваться один из вариантов фрагментов, фланкированных парой праймеров, поскольку последовательность между LTR слишком длинная для ПЦР между сайтами геномной ДНК с ретротранспозоном внутри. Этот метод выявляет полиморфизм только для данного полиморфного локуса. Для повышения эффективности этого метода детекция продуктов амплификации в геле была заменена на визуализацию на микрочипе [Flavell et al., 1998; Jing et al., 2007]. Такая технология получила название TAM (Tagged Microarray Marker).

Преимущества R-BIP:

1. Кодоминантность полиморфных вариантов, возможность использования для анализа большого количества популяций.

2. Удобен для анализа гетерозиготных популяций, так как будут амплифицироваться оба аллеля данного локуса.

Недостатки R-BIP:

1. Необходимо клонирование и секвенирование последовательностей участка ДНК до и после сайта ретротранспозиции.

2. Дорог и трудоемок [Flavell et al., 1998; Календарь, Глазко (Kalendar, Glazko), 2002].

В методе ISBP (Insertion Site-Based Polymorphism) амплифицируется участок ДНК между ретротранспозоном и фланкирующей его последовательностью, но применяется лишь пара праймеров, а произошедшая амплификация означает наличие ретротранспозона в анализируемом сайте [Paux et al., 2010].

Была разработана более чувствительная молекулярно-маркерная система SSAP для редкого растения *Eryngium maritimum*. Шесть Ty-транспозонов с длинным терминалом Ty1-сopia были выделены из генома *E. maritimum* (Tem1-Tem6) и оценены на предмет их полезности в качестве молекулярных маркеров у этого вида. Два ретротранспозона - Tem2 и Tem5 - были признаны наиболее информативными в зависимости от уровня полиморфизма и качества проводимого SSAP. Данное исследование показало эффективность SSAP-анализа для оценки генетического разнообразия *E. maritimum* [Ievina et al., 2010].

Методом ISBP-анализа были продемонстрированы внутривидовые полиморфизмы инсерций Mariner-подобных транспозируемых элементов Vulmar/VulMITE в секции Beta (свекла) подсемейства Betoideae, которые, вероятно, являются следствием их недавней активности. Напротив, никаких уникальных вставок транспозируемых элементов не наблюдалось для видов рода *Beta* секции Corollinae, тогда как набор специфических вставок наблюдался в роде *Patellifolia*, однако только два из них были полиморфными между *P. procumbens* и *P. webbiana* [Grzebelus et al., 2011]. Авторы предполагают, что транспозируемые элементы Vulmar и VulMITE инактивировались в секции Corollinae, но остались активными в секции Beta и у рода *Patellifolia*. Таким образом, ISBP-маркеры тоже могут успешно применяться для филогенетических исследований.

SNP-анализ

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм, самая распространенная маркерная система, используемая как при исследовании геномов животных, так и растений. Имея двоичный или кодоминантный статус, они могут помочь эффективно различать гомозиготные и гетерозиготные аллели. Более того, в

отличие от микросателлитов их эффективность обуславливается не количеством аллелей, а множеством локусов, которые можно оценить [Foster et al., 2010].

За последние годы большое количество разнообразных SNP технологий были разработаны на основе различных методов распознавания аллелей и платформ обнаружения. Большинство анализов SNP генотипирования, на основе молекулярного механизма, относят к одной из четырех групп: аллель-специфическая гибридизация, удлинение праймера, лигирование олигонуклеотидных зондов и инвазивное расщепление олигонуклеотидного зонда. Есть несколько методов обнаружения для анализа продуктов каждого типа реакция (флуоресценция, люминесценция, измерение массы и т.д.). Существуют два разных подхода, связанные с форматом анализа: однородная реакция, когда они проводятся в растворе, и реакция на твердой подложке, такой как стеклянная плоская поверхность, чип, шарик и т.д. [Sobrinho et al., 2005].

Преимущества SNP:

1. Поддаются автоматизации с возможностью масштабирования, что позволяет быстро и эффективно исследовать большое количество образцов [Tsuchihashi, 2002].

2. Маркеры продолжают работать даже с чрезвычайно деградированными молекулами ДНК.

Недостатки SNP:

1. Ограничение возможности мультиплексирования [Beatriz Sobrinho et al., 2005].

2. Сложная интерпретация результатов.

3. Технология SNP остается дорогостоящей.

Появление ДНК-секвенирования нового поколения и высоконадежных SNP-генотирующих платформ позволяет разрабатывать высокоэффективные маркеры для генетического анализа популяций. Например, была создана SNP-платформа высокой плотности для генетического анализа многолетнего райграса (*Lolium perenne*) и ее эффективность подтверждена в широкой коллекции экотипов из 716 особей, отобранных из 90 местообитаний по всей Европе [Blackmore et al., 2015]. Была разработана SNP-платформа для выявления генотипов с важными количественными признаками у китайского каштана. Данная платформа содержит 2620 SNP-маркеров и была разработана на основе анализа результатов полногеномного секвенирования двух наиболее сильно различающихся генотипов китайского каштана [Ji et al., 2018]. Было проведено фенотипирование 64 линий норвежской ели на предмет восприимчивости их к грибу *Heterobasidion parviporum*, дальнейшее их генотипирование привело к выявлению 10 SNP, расположенных в 8 генах,

ассоциированных с образованием большего некротического пятна при грибной инфекции. Авторы предлагают использовать выявленные ими SNP-маркеры для скрининга восприимчивых и устойчивых деревьев [Mukrimin et al., 2018]. Необходимо отметить, что работ по SNP-генотипированию культивируемых человеком растений проводится гораздо больше, чем для дикорастущих форм, что, видимо, связано с дороговизной данных исследований.

Секвенирование и сравнение переменных участков хлоропластного и ядерного геномов

При генетическом анализе дикорастущих растений на первый план довольно часто выходит видоидентификация, а не определение внутривидового полиморфизма, как в случае с культурными растениями. Точное определение вида растения необходимо как при хозяйственном и медицинском использовании растений, так и при фундаментальных исследованиях. Большинство ДНК-маркеров, рассмотренных выше, применяются в первую очередь для выявления генетического полиморфизма, тогда как для видовой идентификации предпочтительно применять метод секвенирования таксономически значимых участков ДНК. При этом методы выявления генетического полиморфизма также используются для видоидентификации, но чаще в качестве вспомогательного средства. Основным требованием к эталонному участку ДНК для секвенирования является то, что он должен быть одинаковым у особей одного вида и достоверно различаться у особей разных видов. При этом количество полиморфных позиций нуклеотидов у особей одного и того же вида не должно превышать 1% [Матвеева и др. (Matveeva et al.), 2011]. Наиболее широкое распространение получили хлоропластные маркеры, такие как гены *rpoB*, *rpoC1*, *rbcl*, *matK* и межгенные спейсеры *psbK-psbI*, *trnH-psbA*, *atpF-atpH*. Из ядерных последовательностей наиболее известны внутренние транскрибируемые спейсеры рибосомных генов: ITS1 расположенный между генами 18S и 5,8S РНК, а также ITS2, расположенный между генами 5,8S и 28S РНК (табл. 3).

Пожалуй, наиболее популярным хлоропластным маркером в филогенетических исследованиях растений является ген *matK*. К примеру, были секвенированы гены *matK* у 48 изолятов *Dasiphora fruticosa* (пятилистник кустарниковый) и построено филогенетическое древо растений этого вида из Монголии [Еруулт и др. (Eruult et al.), 2013]. Имеются сведения, что ген *matK* не может быть использован в филогенетических исследованиях близких видов, так как данный участок в этом случае

становится малоинформативным [Dizkirici et al., 2016]. К примеру, последовательности гена *matK* у всех четырех видов диких диплоидных пшениц оказались идентичны [Golovnina et al., 2007]. Huang с соавт. [2002] изучая пластидные гены *Acc-1* и *Pgk-1*, которые кодируют белки ацетил-КоА карбоксилазу и 3-фосфоглицераткиназу, соответственно, выяснили, что хлоропластные геномы *Ae. speltoides* и *T. aestivum* тесно связаны. Также, к *T. aestivum* оказался близок по этим генам *T. urartu*.

Таблица 3.

Некоторые хлоропластные и ядерные маркеры, применяемые для секвенирования при филогенетических исследованиях дикорастущих растений [по Taberlet et al., 1991; Olmstead, Sweere, 1994; Матвеевой и др. (Matveeva et al.), 2011; Prince, 2015].

Table 3. Some chloroplast and nuclear markers using for sequencing in phylogenetic studies of wild plants [Taberlet et al., 1991; Olmstead, Sweere, 1994; Matveeva et al., 2011; Prince, 2015].

Маркер Marker	Описание Description
<i>matK</i>	Хлоропластный, кодирует матуразу К Chloroplast, encodes maturase K
<i>rbcL</i>	Хлоропластный, ген большой субъединицы рибулозобисфосфат-карбоксилазы Chloroplast, gene of large subunit of ribulose biphosphate carboxylase
<i>rpoB</i>	Хлоропластный, ген β -субъединицы РНК-полимеразы Chloroplast, β -subunit gene of RNA polymerase
<i>rpoC1</i>	Хлоропластный, ген γ -субъединицы РНК-полимеразы Chloroplast, γ -subunit gene of RNA polymerase
psbK-psbI	Хлоропластный, спейсер генов кодирующих компоненты фотосистемы II Chloroplast, spacer of genes encoding components of photosystem II
trnH-psbA	Хлоропластный, спейсер между генами гистидиновой транспортной РНК и геном, контролирующим синтез белка D1 фотосистемы II Chloroplast, spacer between the genes of histidine transfer RNA and the gene controlling the synthesis of D1 protein of photosystem II
atpF-atpH	Хлоропластный, спейсер между генами, кодирующими субъединицы АТФ-синтазы Chloroplast, spacer between genes encoding ATP synthase subunits

<i>ndhF</i>	Хлоропластный, ген субъединицы никотинамиддегидрогеназы Chloroplast, nicotinamide dehydrogenase subunit gene
rpS4-trnT	Хлоропластный, спейсер между геном рибосомального белка 4 малой субъединицы и треониновой транспортной РНК Chloroplast, spacer between the gene of the ribosomal protein 4 of the small subunit and threonine transfer RNA
trnL-trnF	Хлоропластный, вариабельный участок между генами транспортных РНК лейцина и фенилаланина, включая интрон гена <i>trnL</i> Chloroplast, variable region between the genes for the transfer RNA of leucine and phenylalanine, including the intron of the <i>trnL</i> gene
ITS	Внутренний транскрибируемый спейсер, локализованный между генами 18S-26S рРНК, включает ITS1, 5,8S, ITS2 Internal transcribed spacer localized between 18S-26S rRNA genes includes ITS1, 5.8S, ITS2

Из ядерных последовательностей весьма популярен ITS1. На основе сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей гена 18S рРНК представителей рода *Veronica* высказано предположение о гибридном происхождении однолетников *V. tenuis* и *V. anagalloides* от многолетников [Пантюхина и др. (Pantuykhina et al.), 2012]. В большинстве исследований дикорастущих растений применялось одновременно несколько ДНК-маркеров, что способствовало увеличению достоверности полученных данных, особенно при использовании как хлоропластного, так и ядерного маркера. К примеру, было проведено сравнение нуклеотидных последовательностей гена *matK* и ITS видов рода *Sedum* (очиток), который показал, что виды этого рода в большинстве относятся к кладам *Acre* и *Leucosedum* [Никулин, Гончаров, (Nikulin, Goncharov), 2017]. Было проведено молекулярно-филогенетическое исследование рода *Ononis* (стальник) путем сравнения нуклеотидных последовательностей ITS, *rbcL* и *matK*. Анализ показал, что вид *O. pusilla* имеет самостоятельный видовой статус и относится к подсекции *Bugranoides*. Виды *O. arvensis*, *O. spinosa* и *O. repens* относятся к подсекции *Acanthononis* [Лужанин и др. (Luzhanin et al.), 2013]. Показана эффективность использования маркеров *rbcL* и *trnL-F* для филогенетических исследований семейства Лютиковые [Евдокимов (Evdokimov), 2017]. Путем

анализа генов *rbcL*, *cpcA*, *cpcB*, *psaA*, *atpB* фитопланктонных организмов выявлена их неспецифическая реакция в филогенезе на органическое загрязнение водоема [Фролова и др. (Frolova et al.), 2012]. Примером одновременного использования большого количества ДНК-маркеров является также исследование состояния двух реликтовых видов растений *Anemone baicalensis* и *Eranthis sibirica* во флоре Байкальской Сибири, где был проведен анализ нуклеотидных последовательностей ITS1, ITS2, *trpL20*, *psbA-trnH* [Протопопова и др. (Protoporova et al.), 2015]. Для уточнения и подтверждения результатов анализа нуклеотидных последовательностей ITS могут быть использованы описанные выше методы ДНК-фингерпринтинга, к примеру, RAPD-анализ [Андреев и др. (Andreev et al.), 2010].

Таким образом, для молекулярно-филогенетического анализа используется большое количество переменных участков генома, и следовательно для специалистов в этой области существует проблема выбора оптимального ДНК-маркера. Целенаправленные поиски таких «счастливых генов» тоже ведутся, и, например, был проведен компьютерный эксперимент по анализу 41 полного хлоропластного генома цветковых растений. Было показано, что филогенетическое древо, построенное на основе объединения транслированных нуклеотидных последовательностей генов, кодирующих субъединицы пластидной РНК-полимеразы, является наиболее близким к дереву, построенному с использованием всех белок-кодирующих участков хлоропластного генома [Логачева и др. (Logacheva et al.), 2007]. При этом для генетического анализа желательно использовать одновременно несколько генов, кодирующих субъединицы пластидной РНК-полимеразы – *proA*, *proB*, *proC1*, *proC2*. Кроме универсальных для всех цветковых растений ДНК-маркеров, разрабатываются также праймеры для анализа определенных групп

растений. Например, для филогенетического анализа пшениц использовали гены *Waxy* [Li et al., 2012] и гистона H3 [Kanazin et al., 1996; Кулуев и др. (Kuluev et al.), 2018c]. В филогенетических исследованиях пшеницевых также используются промоторные области рДНК. Например, в работе Вахитова с соавт. [2003] исследуются укороченные спейсеры ряда видов пшениц и эгилопсов, а также аналогичные участки межгенных спейсеров рРНК мягкой пшеницы локусов *NorB2* и *NorD3*.

Заключение

Все многообразие технологий генетического анализа дикорастущих растений на сегодняшний день преимущественно основано лишь на трех базовых методах молекулярной биологии: ПЦР, ДНК-чипы и секвенирование. У каждой из этих групп методов есть свои преимущества и недостатки. Методы ПЦР не всегда отвечают современным требованиям, но продолжают привлекать своей дешевизной и простотой, но при видоидентификации эти методы могут выполнять лишь вспомогательную роль. Довольно полезна эта группа методов для оценки генетического полиморфизма, однако даже по данному критерию ПЦР сильно уступает методам ДНК-чипирования SNP. Связано это с тем, что методом ДНК-чипирования можно выявлять на порядки больше снипов, которых в популяциях великое множество. Еще большее число снипов могло бы быть выявлено при помощи полногеномного секвенирования, однако этот метод пока остается дорогостоящим и трудоемким и потому недоступным для многих лабораторий. Анализ литературы за последние два года показывает, что методы SNP-анализа дикорастущих растений превалируют над методами ПЦР (рис. 7). Вероятнее всего, в ближайшее время доля SNP-анализа для изучения генетического полиморфизма растений будет только расти.

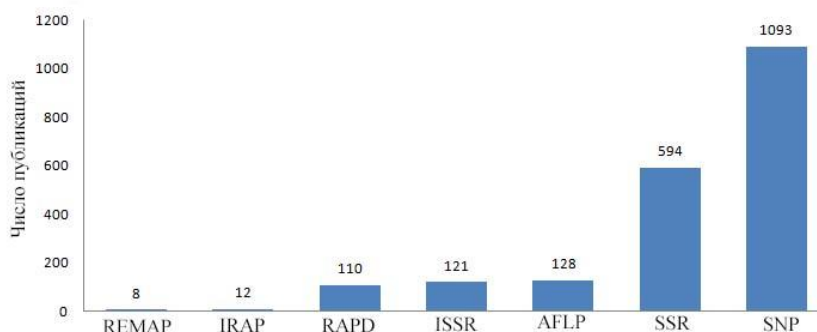


Рис. 7. Число публикаций по использованию ДНК-маркеров основанных на ПЦР и на ДНК-чипах по базе данных PubMed за 2017-2018 гг. (Поиск публикаций велся путем ввода в поисковую строку: REMAP/IRAP/RAPD/AFLP/SSR/SNP AND Plant AND 2017/2018).

Fig. 7. The number of publications on the use of DNA markers based on PCR and DNA microarray in the PubMed database for 2017-2018. (The search of publications was conducted by entering into the search box: REMAP/IRAP/RAPD/AFLP/SSR/SNP AND Plant AND 2017/2018).

Для видоидентификации растений в ближайшем будущем будут продолжать применять методы секвенирования отдельных локусов ДНК. Ранее были проведены многочисленные исследования «счастливых генов» как хлоропластного, так и ядерного геномов, однако таких универсальных для всех групп растений генов пока не обнаружено. Поэтому филогенетические исследования растений обычно ведут сразу по нескольким ДНК-маркерам, что позволяет в сочетании со всеми другими методами биологии растений приблизиться к решению проблемы точной видоидентификации. В обозримом будущем стандартным методом точного определения вида растений также может стать полногеномное секвенирование. Таким образом, новейшие методы секвенирования могут помочь решать одновременно две проблемы генетики растений: видоидентификацию и оценку внутривидового генетического полиморфизма. Однако, несмотря на разработку все новых методов генетического анализа растений при видоидентификации необходимо учитывать и остальные критерии вида: морфологический, экологический, географический и другие.

Интерес к данной тематике вызван проводимыми исследованиями по гранту РФФИ-Поволжье № 17-44-020120 p_a.

Литература

1. Александров О.С., Дивашук М.Г., Карлов Г.И. Создание пол-специфичного молекулярного маркера для хмеля японского *Humulus japonicus* Siebold & Zucc. // Генетика. 2011. Т. 47. С. 1145–1149. DOI: 10.1134/S1022795411080023
2. Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике // Генетика. 2002. Т. 38. С. 1173–1195.
3. Андреев И.О., Спиридонова Е.В., Кирьяченко С.С., Парникова И.Ю., Майданюк Д.Н., Волков Р.А., Козерецкая И.А., Кунах В.А. Популяционно-генетический анализ *Deschampsia antarctica* из двух регионов приморской Антарктики // Вестник Московского университета. Серия 16: Биология. 2010. №4. С. 88–91.
4. Баймухаметова Э.А., Лаштабова С.В., Головина В.Ю., Кимсанбаев О.Х., Кулуев Б.Р. Применение индуцированного мутагенеза для увеличения генетического полиморфизма хлопчатника // Биомика. 2017. Т. 9. № 4. 370–379.
5. Байрамгулова З.Х., Редькина Н.Н., Байрамгулов Н.Р. Особенности генофонда солодки Коржинского на юго-востоке Башкортостана // Актуальные проблемы генетики и молекулярной биологии. Материалы всероссийской молодежной конференции в рамках федеральной целевой программы "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 годы. ФГБОУ ВПО "Башкирский государственный аграрный университет". 2010. С. 32–37.
6. Бобошина И.В., Боронникова С.В. Изучение генетического полиморфизма некоторых сортов *Triticum aestivum* L. с использованием ISSR-маркеров // Аграрный вестник Урала. 2012. № 5. С. 19–20.
7. Боронникова С.В. Генетическая паспортизация популяций редких видов растений рода *Adonis* с использованием ISSR- и IRAP-маркеров // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. № 1. 2009. С. 82–88.
8. Боронникова С.В. Генетическая паспортизация редких и нуждающихся в охране видов растений как основа оптимизации сохранения их генофондов // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. 2009. № 3. С. 8–17.
9. Боронникова С.В., Кокаева З.Г., Тихомирова Н.Н., Смирнова А.В., Бойкова А. А. Молекулярно-генетический анализ популяций редкого лекарственного вида *Adonis sibirica* Patr. ex Ledeb. на основании полиморфизма ISSR-маркеров // Успехи современной биологии. 2010. Т. 130. №5. С. 481–486.
10. Боронникова С.В., Нечаева Ю.С. Молекулярно-генетическая идентификация и паспортизация редкого вида растений пермского края *Adenophora lilifolia* (L.) A. DC. // Вестник Пермского университета. Пермь. 2012. С. 41–44.
11. Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края: монография / Перм. Гос. Нац. Исслед. Ун-т. Пермь. 2013. 239 с.
12. Вахитов В.А., Чемерис А.В., Сабиржанов Б.Е., Ахунов Э.Д., Куликов А.М., Никоноров Ю.М., Гималов Ф.Р., Бикбулатова С.М., Баймиев А.Х. Филогенетические взаимоотношения родов *Triticum* L. и *Aegilops* L. и нуклеотидные последовательности промоторных областей рДНК их отдельных представителей // Генетика. 2003. Т. 39. №1. С. 5–17. DOI: 10.1023/A:1022095224123
13. Грушецкая З.Е., Никитинская Т.В., Кубрак С.В., Дзюбан О. В., Кухарева Л.В., Поликсенова В.Д., Титок В.В., Лемеш В.А., Парфенов В.И., Хотылева Л.В. Использование ISSR-анализа для изучения внутри- и межвидового генетического

- полиморфизма различных таксонов высших растений // Вестник БГУ. 2013. №3. С. 50–56.
14. Гуи Ф.Р., Ван Ф.Х., Гуо Я.И. Определение генетической структуры популяции инвазивного сорного растения *Ageratina adenophora* с помощью ISSR-PCR маркеров // Физиология растений. 2009. Т. 56. № 3. С. 453–459. DOI: 10.1134/S1021443709030157
 15. Гучетль С.З., Челюстникова Т.А., Антонова Т.С. Оптимизация выделения ДНК паразита (Orobanchе cumana Wallr.) и выявление полиморфных RAPD- и SSR-локусов для генотипирования паразита масличных культур. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. Краснодар. 2013. №2. С. 17.
 16. Девятова Н.М., Бельтюкова Н.Н., Назаров А.В. Анализ генетического разнообразия *Poa pratensis* L. в условиях нефтяного загрязнения почв с использованием IRAP-маркеров // Аграрный вестник Урала. 2011. № 1. Екатеринбург. С. 18–20.
 17. Дымшакова О.С., Семериков В. Л., Ласко М. Применение AFLP анализа для оценки генетического вклада родителей в потомство при гибридизации *Saxifraga sibirica* L. и *S. cernual*. // Экология. 2012. № 5. С. 319–323. DOI: 10.1134/S1067413612050062
 18. Евдокимов И.Ю. Молекулярная филогения семейства Ranunculaceae на основе rbcL и trnL-F последовательностей хлоропластной ДНК // Проблемы ботаники Южной Сибири и Монголии. 2017. №16. С. 240–245.
 19. Еруулт Ч., Наранхажид М., Чойжамц Г., Пурэвдорж И. Молекулярно-генетическое исследование *Dasiphora fruticosa* растущего в Монголии // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2013. Т. 119. № 4. С. 106–110.
 20. Зарецкая М.В., Федоренко О.М. Генетическое разнообразие и популяционная структура вида *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. острова Валаам // Труды карельского научного центра российской академии наук. 2016. №11 С. 9–16.
 21. Калаев В.Н., Землянухина О.А., Карпеченко И.Ю., Карпеченко К.А., Кондратьева А.М., Вепринцев В.Н., Карпеченко Н.А., Карпова С.С., Моисеева Е.В., Баранова Т.В. Использование методов молекулярно-генетического анализа для изучения полиморфизма ДНК растений рода *Rhododendron* с целью их паспортизации / фундаментальные исследования. Издательский дом "Академия естествознания". Пенза. 2012. №6 С. 323–328.
 22. Календарь Р.Н., Глазко В.И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // Физиология и биохимия культурных растений. 2002. Т. 34. С. 279–296.
 23. Калько Г.В. ДНК-маркеры для оценки генетических ресурсов ели и сосны // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. 2015. №4. С. 19–34.
 24. Калько Г.В. Тестирование ядерных микросателлитных маркеров сосны обыкновенной // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. 2017. № 1. С. 23–34.
 25. Кочиева Е.З., Оганисян А.Г. Молекулярный анализ RAPD-маркеров генома картофеля // Сельскохозяйственная биотехнология. Избранные работы. Под. ред. Шевелухи В. С. Евразия. 2000. Т. 1. С. 24–32.
 26. Кулуев Б.Р., Артюхин А.Е., Шевченко А.М., Михайлова Е.В. Водяной орех плавающий *Trapa* L.: биология, ареал распространения и исследование его изолированных популяций в озерах Нуримановского района Республики Башкортостан // Биомика. 2017. Т. 9. №2. С. 101–118.
 27. Кулуев Б.Р., Фатерыга А.В., Кулуев А.Р., Михайлова Е.В., Чемерис А.В. Молекулярно-генетическое исследование одуванчика осеннего (*Taraxacum hybernum* Steven) с использованием SSR-, RAPD- и ISSR-маркеров // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018а. Т. 22. С. 102–107. DOI 10.18699/VJ18.337
 28. Кулуев Б.Р., Баймиев Ан.Х., Геращенко Г.А., Чемерис Д.А., Зубов В.В., Кулуев А.Р., Баймиев Ал.Х., Чемерис А.В. Методы ПЦР для выявления мультилокусного полиморфизма ДНК у эукариот, основанные на случайном праймировании // Генетика. 2018b. Т. 54. № 5. С. 495–511. DOI: 10.1134/S102279541805006X
 29. Кулуев А.Р., Матниязов Р.Т., Кулуев Б.Р., Чемерис А.В. Молекулярно-генетическое исследование *Triticum sinskajae* A. Filat. et Kurk. с помощью RAPD-анализа и путем сравнения нуклеотидных последовательностей варибельного межгенного участка petN-trnC-GCA хлоропластного генома и интрона гена гистона H3.2 // Экологическая генетика. 2018с. Т. 16. №1. С. 53–59. DOI: 10.17816/ecogen16153-59
 30. Кулуев Б.Р., Швеиц Д.Ю., Голованов Я.М., Пробатова Н.С. Тладианта сомнительная (*Thladiantha dubia*, Cucurbitaceae) в Башкортостане - опасный сорняк с высоким инвазионным потенциалом // Российский

- журнал биологических инвазий. 2018d. №4. В печати.
31. Костюкова Е.Е., Заякин В.В., Нам И.Я. Молекулярно-генетический анализ редких видов орхидных Брянской области // Бюллетень Брянского отделения РБО. 2013. № 1. С. 51–55.
 32. Логачева М.Д., Пенин А.А., Самигуллин Т.Х., Вальехо-Роман К.М., Антонов А.С. Филогения цветковых растений по последовательностям хлоропластного генома: в поисках «счастливого гена» // Биохимия. 2007. Т. 72. Вып. 12. С. 1624–1631. DOI: 10.1134/S0006297907120061
 33. Лужанин В.Г., Родионов А.В., Яковлев Г.П. Молекулярно-филогенетическое исследование рода *Ononis* L. (Fabaceae) во флоре России и сопредельных государств // Ботанический журнал. 2013. Т. 98. № 5. С. 629–637.
 34. Матвеева Т. В., Павлова О.А., Богомаз Д. И., Демкович А. Е., Лутова Л. А. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений // Экологическая генетика. 2011. Т. 9. № 1. С. 32–43.
 35. Мельникова Н.В., Сперанская А.С., Дарий М.В., Беленикин М., Дмитриев А.А., Кудрявцева А.В. Использование молекулярных маркеров, основанных на ретротранспозонах, для изучения генетического разнообразия растений // Вестник Российского государственного аграрного заочного университета. 2003. №. 14. С. 32–35.
 36. Нечаева Ю.С., Боронникова С.В., Видякин А.И., Пришнинская Я.В., Юсупов Р.Р. Молекулярно-генетический анализ популяций хвойных видов растений на Урале и востоке европейской части России для сохранения и возобновления лесных ресурсов // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16. № 1–3. С. 878–882.
 37. Никулин В.Ю., Гончаров А.А. Молекулярно-филогенетическая характеристика *Sedum* (Crassulaceae) и близких ему родов на основании сравнения нуклеотидных последовательностей гена *matK* хлоропластной ДНК и ITS региона рибосомной ДНК // Ботанический журнал. 2017. Т. 102. № 3. С. 309–328.
 38. Новикова А.А., Шейкина О.В., Новиков П.С., Доронина Г.У. Оценка возможности применения ISSR-маркеров для систематизации и генетической паспортизации растений рода *Rhododendron* // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета. 2012. № 82. С. 79–89.
 39. Пришнинская Я.В., Нечаева Ю.С., Красильников В.П., Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ четырех популяций *Pinus silvestris* L. на востоке русской равнины на основании полиморфизма ISSR-маркеров // Вестник Оренбургского государственного университета. 2016. № 2. С. 88–93.
 40. Протопопова М.В., Павличенко В.В., Гнутиков А.А., Адельшин Р.В., Чепинога В.В. Использование генетических маркеров для оценки состояния реликтовых видов растений байкальской Сибири // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2015. № 4. С. 28–36.
 41. Реунова Г.Д., Кац И.Л., Музарок Т.И., Журавлёв Ю.Н. Полиморфизм RAPD, ISSR И AFLP маркеров генома женьшеня настоящего *Panax ginseng* C.A. Meyer (Araliaceae) // Генетика. 2010. Т. 46. № 8. С. 1057–1066.
 42. Сагындыкова М.С., Иманбаева А.А., Сарсенбаев К.Н. Изучение лекарственного растения *Ferula foetida* с использованием RAPD-PCR анализа ДНК в природных популяциях Мангистау // В сборнике: Биологические особенности лекарственных и ароматических растений и их роль в медицине сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию ВИЛАР. 2016. С. 149–152.
 43. Светлакова Т.Н., Бобошина И.В., Боронникова С.В., Нечаева Ю.С. Эколого-генетический анализ популяционной структуры *Populus tremula* L. в пермском крае // Экологическая генетика. 2012. Т. 10. № 3. С. 22–27.
 44. Симчук А.П., Ивашов А.В., Оберемок В.В., Гюрбюз М.Ф. Влияние генетической изменчивости дуба пушистого и зеленой дубовой листовертки на компоненты приспособленности ее паразита *Brachimeria intermedia* (Hymenoptera: chalcididae) // Экосистемы, их оптимизация и охрана. 2015. Вып. 6. С. 115–120.
 45. Спиридович Е.В., Фоменко Т.И., Власова А.Б., Мазур Т.В., Юхимук А.Н. Биохимический и молекулярно-генетический анализ многоколосника морщинистого (*Agastache rugosa* (Fisch. et Mey.) Kuntze) в культуре *in vitro* // Вестник фармации. 2012. № 4. С. 75–87.
 46. Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения // Успехи современной биологии. 2011. Т. 9. С. 32–43.
 47. Сухарева А.С., Кулуев Б.Р. ДНК-маркеры для генетического анализа сортов культурных

- растений // Биомика. 2018. Т. 10. № 1. С. 69–84. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-15
48. Тухватуллина Л.А., Абрамова Л. М. Редкие ресурсные дикорастущие луки флоры Башкортостана в условиях интродукции // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2012. №1. С. 33–35.
 49. Федоров Н.И., Редькина Н.Н., Янбаев Ю.А., Михайленко О.И. Сравнительный анализ изменчивости изоферментных локусов видов *Thalictrum* L. на Южном Урале // Актуальные проблемы генетики и молекулярной биологии. Материалы всероссийской молодежной конференции в рамках федеральной целевой программы "научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 годы. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации. ФГБОУ ВПО "Башкирский государственный аграрный университет". 2012 С. 90–92.
 50. Фролова Л.Л., Сабиров М.С., Фирсова С.С. Филогенетический анализ генов *rbcL*, *cpaA*, *cpb*, *psaA*, *atpB* индикаторных фитопланктонных организмов // Георесурсы. 2012. № 6. С. 45–48.
 51. Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17. №4/2. С. 1044–1054.
 52. Янбаев Р.Ю., Габитова А.А., Султанова Р.Р., Боронникова С.В., Янбаев Ю.А. ISSR-анализ полиморфизма ДНК дуба черешчатого: аргументы в пользу использования для лесовосстановления семян местных насаждений // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2017. № 1. С. 220–222.
 53. Arif I.A., Khan H.A., Bahkali A.H., Homaidan A.A., Farhan A.A., Sadoon, M.A., Shobrak M. DNA marker technology for wildlife conservation // Saudi J Biol Sci. 2011 V. 18. P. 219–225. DOI: 10.1016/j.sjbs.2011.03.002
 54. Awasthi A., Nagaraja G., Naik G., Kanginakudru S., Thangavelu K., Nagaraju J. Genetic diversity and relationships in mulberry (genus *Morus*) as revealed by RAPD and ISSR marker assays // BMC Genetics. 2004. V. 5. P. 1–9. DOI: 10.1186/1471-2156-5-1
 55. Baumel A., Ainouche M., Kalendar R., Schulman A.H. Retrotransposons and genomic stability in populations of the young allopolyploid species *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poaceae) // Mol Biol Evol. 2002. V. 19. 1218-1227. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a004182
 56. Bitonti M.B., Cozza R., Wang G., Ruffini-Castiglione M., Mazzuca S., Castiglione S., Sala F., Innocenti A.M. Nuclear and genomic changes in floating and submerged buds and leaves of heterophyllous water chestnut (*Trapa natans*) // Physiologia Plantarum. 1996. V. 97. P. 21–27.
 57. Bhattacharyya P., van Staden J. Molecular insights into genetic diversity and population dynamics of five medicinal *Eulophia* species: a threatened orchid taxa of Africa // Physiol Mol Biol Plants. 2018. V. 24. P. 631–641. DOI: 10.1007/s12298-018-0523-6
 58. Blackmore T., Thomas I., McMahon R., Powell W., Hegarty M. Genetic-geographic correlation revealed across a broad European ecotypic sample of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) using array-based SNP genotyping // Theor Appl Genet. 2015. V. 128. P. 1917–1932. DOI: 10.1007/s00122-015-2556-3
 59. Blouin M.S., Parsons M., Lacaille V., Lotz S. Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness // Molecular Ecology. 1996. V. 5. P. 393–401.
 60. Dizkirici A., Kansu C., Onde S. Molecular phylogeny of *Triticum* and *Aegilops* genera based on its and *MatK* sequence data // Pakistan Journal of Botany. 2016. V. 48. P. 143–153.
 61. Ebadi M., Eghbali M. Study of different wheat cultivars using the ISSR marker // World Family Medicine. 2017. V. 10. P. 296–301. DOI: 10.5742/MEWFM.2017.93178
 62. Flavell A.J., Knox M.R., Pearce S.R., Ellis T.H. Retrotransposon-based insertion polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis // Plant J. 1998. V. 16. P. 643–650.
 63. Foster T.F., Allan G.J., Chan A.P., Rabinowicz P.D., Ravel J., Jackson P.J., Keim P. Single nucleotide polymorphisms for assessing genetic diversity in castor bean (*Ricinus communis*) // BMC Plant Biol. 2010. DOI: 10.1186/1471-2229-10-13
 64. Gawel M., Wisniewska I., Rafalski A. Semi-specific PCR for the evaluation of diversity among cultivars of wheat and triticale // Cell Mol Biol Lett. 2002. V. 7. P. 577–582.
 65. Gilani S.A., Hirano H., Fujii Y., Watanabe K. AFLP and PBA polymorphisms in an endangered medicinal plant, *Rhazya stricta*, in Pakistan // Plant Genetic Resources. 2014. V. 12. P. 199–206.
 66. Golovnina K.A., Glushkov S.A., Blinov A.G., Mayorov V.I., Adkison L.R., Goncharov N.P. Molecular phylogeny of genus *Triticum* L. // Plant Syst Evol. 2007. V. 264. P. 195–216. DOI: 10.1007/s00606-006-0478-x
 67. Grzebelus D., Stawujak K., Mitoraj J., Szklarczyk M. Dynamics of vulmar/vulmite group of transposable elements in Chenopodiaceae

- subfamily *Betoideae* // *Genetica*. 2011. V. 139. P. 1209–1216. DOI: 10.1007/s10709-011-9622-9
68. Gustafsson A.L., Skrede I., Rowe H.C., Gussarova G., Borgen L., Rieseberg L.H., Brochmann C., Parisod C. Genetics of cryptic speciation within an Arctic mustard, *Draba nivalis* // *PLoS One*. 2014. V. 9(4): e93834. DOI: 10.1371/journal.pone.0093834
69. He R.L., Han Y.L., Wang F., Liu J.Q., Wang L.H. Analysis on SSR information in transcriptome of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* and its polymorphism // *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2018. V. 43. P. 1838–1843. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20180307.002
70. Huang S., Sirikhachornkit A., Faris J.D., Su X., Gill B.S., Haselkorn R., Gornicki P. Phylogenetic analysis of the acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase loci in wheat and other grasses // *Plant Mol Biol*. 2002. V. 48. P. 805–820. DOI: 10.1023/A:1014868320552
71. Huang Q., Wang Z., Wang T., Su Y. Development and characterization of 23 polymorphic microsatellite loci for *Amentotaxus argotaenia* (Taxaceae), a relict vulnerable species // *Appl Plant Sci*. 2018. V. 23. 6(5):e01149. DOI: 10.1002/aps3.1149
72. Ievina B., Syed N.H., Flavell A.J., Ievinsh G., Rostoks N. Development of retrotransposon-based SSAP molecular marker system for study of genetic diversity in sea holly (*Eryngium maritimum* L.) // *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 2010. V. 8. P. 258–266. DOI: 10.1017/s1479262110000316
73. Jarne P., Lagoda P.J. Microsatellites, from molecules to populations and back // *Trends in Ecology & Evolution*. 1996. V. 11. P. 424–429.
74. Ji F., Wei W., Liu Y., Wang G., Zhang Q., Xing Y., Zhang S., Liu Z., Cao Q., Qin L. Construction of a SNP-based high-density genetic map using genotyping by sequencing (GBS) and QTL analysis of nut traits in Chinese chestnut (*Castanea mollissima* Blume) // *Front Plant Sci*. 2018. V. 14. 816. DOI: 10.3389/fpls.2018.00816
75. Jing E., Gesta S., Kahn C.R. SIRT2 regulates adipocyte differentiation through FoxO1 acetylation/deacetylation // *Cell Metab*. 2007. V. 6. P. 105–114.
76. Kachare S., Tiwari S., Tripathi N. Morphological and molecular assessment of genetic diversity of water chestnut (*Trapa natans*) from different ponds of central India // *World Research Journal of Cell Biology*. 2013. V. 1. P. 028–031.
77. Kalendar R., Grob T., Regina M., Suoniemi A., Schulman A.H. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques // *Theor. Appl Genet*. 1999. V. 98. P. 704–711.
78. Kalendar R., Schulman A.H. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting // *Nature Protoc*. 2006. V. 1. P. 2478–2484.
79. Kanazin V., Blake T., Shoemaker R. Organization of the histone H3 genes in soybean, barley and wheat // *Mol. Gen. Genet*. 1996. V. 250. P. 137–147.
80. Karp A., Edwards K., Bruford M., Vosman B., Morgante M., Seberg O., Kremer A., Boursot P., Arctander P., Tautz D., Hewitt G. Newer molecular technologies for biodiversity evaluation: opportunities and challenges // *Nature Biotechnol*. 1997. V. 15. P. 625–628.
81. Kuhn B.C., Mangolin C.A., Souto E.R., Vicient C.M., Machado M.F. Development of retrotransposon-based markers IRAP and REMAP for cassava (*Manihot esculenta*) // *Genet Mol Res*. 2016. V. 15. DOI: 10.4238/gmr.15027149
82. Mahatma M.K., Srivastav V.S., Jha S. Genetic diversity analysis of date palm using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR). *Methods Mol Biol*. 2017. V. 1638. P. 105–112. DOI: 10.1007/978-1-4939-7159-6_10
83. Marwal A., Sahu A.K., Choudhary D.K., Gaur R.K. Complete nucleotide sequence of a begomovirus associated with satellites molecules infecting a new host tagetes patula in India // *Virus Genes*. 2014. V. 47. P. 194–198. DOI: 10.1007/s11262-013-0914-2
84. Matveeva T.V., Simonova A.V., Lutova L.A. Molecular markers of inbred radish (*Raphanus sativus* var. *Radicola pers*) lines // *Cell and Mol. Biol. Lett*. 2002. V. 7. P. 845–848.
85. McAssey E.V., Gudger E.G., Zuellig M.P., Burke J.M. Population genetics of the rubber-producing Russian dandelion (*Taraxacum kok-saghyz*) // *PLoS One*. 2016. V. 11. DOI: 10.1371/journal.pone.0146417
86. Ming-na L., Rui-cai L., Zi-rong F., Feng-qi L., Yan S., Kun Z., Jun-mei K., Zhen W., Shi-hao C. Transcriptome analysis of salt-responsive genes and SSR marker exploration in *Carex rigescens* using RNA-seq // *Journal of Integrative Agriculture*. 2018. V. 17. P. 184–196.
87. Mukrimin M., Kovalchuk A., Neves L.G., Jaber E.H.A., Haapanen M., Kirst M., Asiegbo F.O. Genome-wide exon-capture approach identifies genetic variants of Norway spruce genes associated with susceptibility to *Heterobasidion parviporum* infection // *Front Plant Sci*. 2018. V. 9: 793. DOI: 10.3389/fpls.2018.00793

88. Li S.F., Wang L.J., Deng C.L., Gao W.J. Identification of male-specific AFLP and SCAR markers in the dioecious plant *Humulus scandens* // Mol Cell Probes. 2017. V. 34. P. 68–70. DOI: 10.1016/j.mcP.2017.05.007
89. Li W., Gao Z., Xiao W., Wei Y., Liu Y., Chen G., Pu Z., Chen H., Zheng Y. Molecular diversity of restriction enzyme sites, indels and upstream open reading frames (uORFs) of 5' untranslated regions (UTRs) of *Waxy* genes in *Triticum* L. and *Aegilops* L. species // Genetic Resources and Crop Evolution. 2012. V. 59. P. 1625–1647.
90. Li X.L., Fan X.R., Chu H.J., Wei Li., Chen Y.Y. Genetic delimitation and population structure of three *Trapa* taxa from the Yangtze River, China // Aquatic Botany. 2017. V. 136. P. 61–70.
91. Li-Na G., Xue-Li Z., Xin-Fen G. De novo assembly and characterization of leaf transcriptome for the development of EST-SSR markers of the non-model species *Indigofera szechuensis* // Biochemical Systematics and Ecology. 2016. V. 68. P. 36–43.
92. Liu X., Zhang X., Shi Y., Tang D. Genetic diversity analysis of nine narcissus based on morphological characteristics and random amplified polymorphic DNA markers // Hortscience. 2017. V. 52, No. 2. P. 212–220. DOI: 10.21273/HORTSCI11171-16
93. Nadot S., Bajon R., Lejeune B. The chloroplast gene *rps4* as a tool for the study of Poaceae phylogeny // Plant Syst. Evol. 1994. V. 191. P. 27–38.
94. Nagy E.D., Molnár I., Schneider A., Kovács G., Molnár-Láng M. Characterization of chromosome-specific S-SAP markers and their use in studying genetic diversity in *Aegilops* species // Genome. 2006. V. 49. P. 289–296.
95. Nguyen T.X., Lee S.I., Rai R., Kim N.S., Kim J.H. Ribosomal DNA locus variation and REMAP analysis of the diploid and triploid complexes of *Lilium lancifolium* // Genome. 2016. V. 59. P. 551–564. DOI: 10.1139/gen-2016-0011
96. Nimbale S., Behl R.K., Chhabra A.K. RAPD analysis for genetic polymorphism in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes varying for grain protein content // The South Pacific J. Nat. Sci. 2009. V. 27. P. 49–56. DOI: 10.1071/SP09009
97. Olmstead R.G., Sweere J.A. Combining data in phylogenetic systematics: An empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae // Syst. Biol. V. 43. P. 467–481.
98. Ouyang P., Kang D., Mo X., Tian E., Hu Y., Huang R. Development and characterization of high-throughput EST-based SSR markers for *Pogostemon cablin* using transcriptome sequencing // Molecules. 2018. V. 23. pii: E2014. DOI: 10.3390/molecules23082014
99. Pakhrou O., Medraoui L., Yatrib C., Alami M., Filali-Maltouf A., Belkadi B. Assessment of genetic diversity and population structure of an endemic Moroccan tree (*Argania spinosa* L.) based in IRAP and ISSR markers and implications for conservation // Physiol Mol Biol Plants. 2017. V. 23. P. 651–661. DOI: 10.1007/s12298-017-0446-7
100. Palombi M.A., Damiano C. Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev) // Plant Cell Reports. 2002. V. 20. P. 1061–1066.
101. Pandotra P., Gupta A., Khan S., Ram G., Gupta S. A comparative assessment of ISSR, RAPD, IRAP, & REMAP molecular markers in *Zingiber officinale* germplasm characterization // Scientia Horticulturae. 2015. V. 194. P. 201–207.
102. Paux E., Faure S., Choulet F., Roger D., Gauthier V., Martinant J., Sourdis P., Balfourier F., Le Paslier M., Chauveau A., Cakir M., Gandon B., Feuillet C. Insertion site-based polymorphism markers open new perspectives for genome saturation and marker-assisted selection in wheat // Plant Biotechnol. 2010. V. 8. P. 196–210. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2009.00477.x
103. Polanco C., Ruiz M. AFLP analysis of somaclonal variation in *Arabidopsis thaliana* regenerated plants // Plant Sci. 2002. V. 162. P. 817–824.
104. Prince L.M. Plastid primers for angiosperm phylogenetics and phylogeography // Appl Plant Sci. 2015. V. 3. pii: apps.1400085. DOI: 10.3732/apps.1400085
105. Prazak R., Paczos-Grzęda E. Genetic similarity among *Aegilops kotschy* Boiss. with *Triticum aestivum* L. hybrid lines // Romanian Agricultural Research. 2017. V. 34. P. 15–23.
106. Queller D.C., Strassmann J.E., Hughes C.R. Microsatellites and kinship // Trends in Ecology and Evolution. 1993. V. 8. P. 285–288.
107. Rani V., Parida A., Raina S.N. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in micropropagated plants of *Populus deltoides* Marsh. // Plant Cell Rep. 1995. V. 14. P. 459–462. DOI: 10.1007/bf00234055.
108. Reddy, R.P., Sarla, N., Siddiq, E.A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding // Euphytica. 2000. V. 128. P. 9–17.
109. Rohlf F.J. NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 5.1. Exeter Publishing Ltd., Setauket, N.Y. 2001.

110. Romero G., Adeva C., Battad Z. Genetic fingerprinting: advancing the frontiers of crop biology research // *Phil Sci Let.* 2009. V. 2. P. 8-13.
111. Ronikier M. The use of AFLP markers in conservation genetics--a case study on *pulsatilla vernalis* in the polish lowlands // *Cell Mol Boil Lett.* 2002 V. 7. P. 677-684.
112. Roy N.S., Lee S.I., Nkongolo K., Kim N.S. Retrotransposons in *Betula nana*, and interspecific relationships in the Betuloideae, based on inter-retrotransposon amplified polymorphism (IRAP) markers // *Genes Genomics.* 2018. V. 40. P. 511-519. DOI: 10.1007/s13258-018-0655-7
113. Savelkoul P.H, Aarts H.J., De Haas J., Dijkshoorn L., Duim B., Otsen M., Rademaker J.L., Schouls L., Lenstra J.A. Amplified-Fragment Length Polymorphism analysis: the state of an art // *J Clin Microbiol.* 1999. V. 37. P. 3083-3091.
114. Senerchia N., Felber F., Parisod C. Contrasting evolutionary trajectories of multiple retrotransposons following independent allopolyploidy in wild wheats // *New Phytol.* 2014. V. 202. P. 975-985. DOI: 10.1111/nph.12731
115. Sobrino B., Brion M., Carracedo A. SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies // *Forensic Sci Int.* 2005. V. 154. P. 181-194.
116. Sorkheh K., Amirbakhtiar N., Ercisli S. Potential start codon targeted (SCoT) and Inter-retrotransposon Amplified Polymorphism (IRAP) markers for evaluation of genetic diversity and conservation of wild *Pistacia* species population // *Biochem Genet.* 2016. V. 54. P. 368-387. DOI: 10.1007/s10528-016-9725-1
117. Sorkheh K., Dehkordi M.K., Ercisli S., Hegedus A., Halász J. Comparison of traditional and new generation DNA markers declares high genetic diversity and differentiated population structure of wild almond species // *Sci Rep.* 2017. V. 7. P. 5966. DOI: 10.1038/s41598-017-06084-4
118. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA // *Plant Mol Biol.* 1991. V. 17. P. 1105-1109.
119. Tang S., Dai W., Li M., Zhang Y., Geng Y., Wang L., Zhong Y. Genetic diversity of relictual and endangered plant *Abies ziyuanensis* (Pinaceae) revealed by AFLP and SSR markers // *Genetica.* 2007. V. 133. P. 21-30.
120. Tsuchihashi Z., Dracopoli N. Progress in high throughput SNP genotyping methods // *Pharmacogenomics.* 2002. V. 2. P. 103-110.
121. Van de Peer Y. Treecon for Windows: a software package for the construction and drawing evolutionary trees for the Microsoft Windows environment // *Computer Application in the Biosciences.* 1994. V.10. No. 5. P. 569-570.
122. Vos P.R., Hogers M., Bleeker M. T Van De Lee, Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting // *Nucl. Acids Res.* 1995. V. 23. P. 4407-4414.
123. Waugh R., Mclean K., Flavell J., Pearce S.R., Kumar A., Thomas B., Powell W. Genetic distribution of bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by Sequence-Specific Amplification Polymorphisms (S-SAP) // *Mol. Gen. Genet.* 1997. V. 253. P. 687-694.
124. Williams J.G., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // *Nucleic Acids Res.* 1990. V. 8. P. 6531-6535.
125. Yang M., Han N., Li H., Meng L. Transcriptome analysis and microsatellite markers development of a traditional Chinese medicinal herb *Halenia elliptica* D. Don (Gentianaceae) // *Evol Bioinform Online.* 2018. V. 14. DOI: 10.1177/1176934318790263
126. Zabeau M., Vos P. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. European patent application 92402629.7 (publ. n. 0 534 858 a1). 1993.
127. Zawko G., Krauss S., Dixon K.W., Sivasithamparam K. Conservation genetics of the rare and endangered *Leucopogon obtectus* (Ericaceae) // *Mol. Ecol.* 2001 V. 10. P. 2389-2396.
128. Ziętkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple-sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics.* 1994. V. 20. P. 176-183.

References

1. Aleksandrov O.S., Divashuk M.G., Karlov G.I. Development of a sex-specific molecular marker for Japanese hop *Humulus japonicus* Siebold & Zucc. *Russian Journal of Genetics.* 2011. T. 47. № 8. P. 1016-1020. DOI: 10.1134/S1022795411080023
2. Altukhov Yu.P., Salmenkova E.A. DNA polymorphism in population genetics. *Russian Journal of Genetics.* 2002. V. 38. P. 989-1008. DOI: 10.1023/A:1020288812170
3. Andreev I.O., Spiridonova E.V., Kyryachenko S.S., Parnikoza I.Yu., Maidaniuk D.N., Volkov R.A., Kozeretska I.A., Kunakh V.A. Population genetic analysis of *Deschampsia antarctica* from two regions of maritime Antarctica. *Bulletin of Moscow University. Series 16: Biology.* 2010. № 4. P. 88-91.

4. Arif I.A., Khan H.A., Bahkali A.H., Homaidan A.A., Farhan A.A., Sadoon, M.A., Shobrak M. DNA marker technology for wildlife conservation. *Saudi J Biol Sci.* 2011. V. 18. P. 219–225. DOI: 10.1016/j.sjbs.2011.03.002
5. Awasthi A., Nagaraja G., Naik G., Kanginakudru S., Thangavelu K., Nagaraju J. Genetic diversity and relationships in mulberry (genus *Morus*) as revealed by RAPD and ISSR marker assays. *BMC Genetics.* 2004. V. 5. P. 1–9. DOI: 10.1186/1471-2156-5-1
6. Baimuhametova E.A., Lashtabova S.V., Golovina V.Y., Kimsanbaev O.H., Kuluev B.R. Application of induced mutagenesis for increasing the genetic polymorphism of cotton. *Biomics.* 2017. V.9. No. 4. P. 370–379.
7. Baumel A., Ainouche M., Kalendar R., Schulman A.H. Retrotransposons and genomic stability in populations of the young allopolyploid species *Spartina anglica* C.E. Hubbard (Poaceae). *Mol Biol Evol.* 2002. V. 19. P. 1218–1227. DOI: 10.1093/oxfordjournals.molbev.a004182
8. Bayramgulova Z.Kh., Redkina N.N., Bayramgulov N.R. Features of the gene pool of licorice *Korzhinsky* in the south-east of Bashkortostan. Actual problems of genetics and molecular biology. *Materials of the All-Russian Youth Conference in the framework of the federal target program "Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia" for 2009-2013. FGBOU VPO "Bashkir State Agrarian University".* 2010. P. 32–37.
9. Bhattacharyya P., van Staden J. Molecular insights into genetic diversity and population dynamics of five medicinal *Eulophia* species: a threatened orchid taxa of Africa. *Physiol Mol Biol Plants.* 2018. V. 24. P. 631–641. DOI: 10.1007/s12298-018-0523-6
10. Bitonti M.B., Cozza R., Wang G., Ruffini-Castiglione M., Mazzuca S., Castiglione S., Sala F., Innocenti A.M. Nuclear and genomic changes in floating and submerged buds and leaves of heterophyllous water chestnut (*Trapa natans*). *Physiologia Plantarum.* 1996. V. 97. P. 21–27.
11. Blackmore T., Thomas I., McMahon R., Powell W., Hegarty M. Genetic-geographic correlation revealed across a broad European ecotypic sample of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) using array-based SNP genotyping. *Theor Appl Genet.* 2015. V. 128. P. 1917–1932. DOI: 10.1007/s00122-015-2556-3
12. Blouin M.S., Parsons M., Lacaille V., Lotz S. Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness. *Molecular Ecology.* 1996. V. 5. P. 393–401.
13. Boboshina I.V., Boronnikova S.V. Studying of genetic polymorphism of some grades *Triticum aestivum* L. with use of ISSR-markers. *Agrarian Bulletin of the Urals.* 2012. No. 5. P. 19–20.
14. Boronnikova S.V. Genetic certification of populations of rare species of plants of the genus *Adonis* using ISSR- and IRAP markers. *Izvestia of Timiryazev Agricultural Academy.* No. 1. 2009. P. 82–88.
15. Boronnikova S.V. Genetic certification of rare and endangered species of plants as basis for their gene pool preservation optimization. *Questions of modern science and practice. Vernadsky University.* 2009. No. 3. P. 8–17.
16. Boronnikova S.V., Kokaeva Z.G., Tikhomirova N.N., Smirnova A. V., Boikova A. A. Molecular-genetic analysis of a rare medicinal plant species (*Adonis sibirica*) based on polymorphism of ISSR markers. *Uspekhi Sovremennoi Biologii.* 2010. V. 130. No. 5. P. 481–486.
17. Boronnikova S.V., Nechaeva Yu.S. The molecular-genetic identification and sertification of rare species of plants of Perm krai *Adenophora lilifolia* (L.) A. DC. *Bulletin of Perm University.* 2012. P. 41–44.
18. Boronnikova S.V. Molecular genetic analysis and assessment of the state of the gene pools of plant species of the Perm region: monograph. Perm State National Research University. Permian. 2013. 239 p.
19. Devyatova N.M., Beltyukova N.N., Nazarov A.V. Analysis of the genetic diversity of *Poa pratensis* L. under conditions of oil pollution of soils using IRAP markers. *Agrarian Bulletin of the Urals.* 2011. No. 1. P. 18–20.
20. Dizkirici A., Kansu C., Onde S. Molecular phylogeny of *Triticum* and *Aegilops* genera based on its *MatK* sequence data. *Pakistan Journal of Botany.* 2016. V. 48. P. 143–153.
21. Dymshakova O.S., Semerikov V.L., Lascoux M. AFLP analysis to estimate the genetic contribution of parents to progeny from hybridization between *Saxifraga sibirica* L. and *S. cernua* L. *Russian Journal of Ecology.* 2012. V. 43. No. 5. P. 347–351. DOI: 10.1134/S1067413612050062
22. Ebadi M., Eghbali M. Study of different wheat cultivars using the ISSR marker. *World Family Medicine.* 2017. V. 10. P. 296–301. DOI: 10.5742/MEWFM.2017.93178
23. Eruult Ch., Naranhazhid M., Choizhamts G., Purevdorzh I. Molecular genetic study of *Dasiphora fruticosa* growing in Mongolia. *Siberian Medical Journal (Irkutsk).* 2013. V. 119. No. 4. P. 106–110.
24. Evdokimov I.Yu. Molecular phylogeny of the Ranunculaceae family based on *rbcl* and *trnL-F* chloroplast DNA sequences. *Problems of botany of Southern Siberia and Mongolia.* 2017. No. 16. P. 240–245.
25. Fedorov N.I., Redkina N.N., Yanbaev Yu.A., Mikhaylenko O.I. Comparative analysis of the variability of isozyme loci of *Thalictrum* L. species in the Southern Urals. *Actual problems of genetics and molecular*

- biology. *Materials of the All-Russian Youth Conference in the framework of the federal target program "Scientific and Scientific-Pedagogical Personnel of Innovative Russia" for 2009-2013. Ministry of Agriculture of the Russian Federation. Bashkir State Agrarian University*. 2012. P. 90–92.
26. Flavell A.J., Knox M.R., Pearce S.R., Ellis T.H. Retrotransposon-Based Insertion Polymorphisms (RBIP) for high throughput marker analysis. *Plant J.* 1998. V. 16. P. 643–650.
 27. Foster T.F., Allan G.J., Chan A.P., Rabinowicz P.D., Ravel J., Jackson P.J., Keim P. Single nucleotide polymorphisms for assessing genetic diversity in castor bean (*Ricinus communis*). *BMC Plant Biol.* 2010. DOI: 10.1186/1471-2229-10-13
 28. Frolova L.L., Sabirov M.S., Firsova S.S. Phylogenetic analysis of *rbcL*, *cpcA* and *cpcB*, *psaA*, *atpB* genes of indicating phytoplankton organisms. *Georesources*. 2012. No. 6. P. 45–48.
 29. Gawel M., Wisniewska I., Rafalski A. Semi-specific PCR for the evaluation of diversity among cultivars of wheat and triticale. *Cell Mol Biol Lett.* 2002. V. 7. P. 577–582.
 30. Gilani S.A., Hirano H., Fujii Y., Watanabe K. AFLP and PBA polymorphisms in an endangered medicinal plant, *Rhazya stricta*, in Pakistan. *Plant Genetic Resources*. 2014. V. 12. P. 199–206.
 31. Golovnina K.A., Glushkov S.A., Blinov A.G., Mayorov V.I., Adkison L.R., Goncharov N.P. Molecular phylogeny of genus *Triticum* L. *Plant Syst Evol.* 2007. V. 264. P. 195–216. DOI: 10.1007/s00606-006-0478-x
 32. Grushetskaya Z.E., Nikitinskaya T.V., Kubrak S.V., Dzyuban O.V., Kukhareva L.V., Poliksenova V.D., Titok V.V., Lemesh V.A., Parfenov V.I., Khotyleva L.V. Using ISSR-analysis to study intra- and interspecific genetic polymorphism of various taxa of higher plants. *Bulletin of BSU*. 2013. No. 3. P. 50–56.
 33. Grzebelus D., Stawujak K., Mitoraj J., Szklarczyk M. Dynamics of vulmar/vulmite group of transposable elements in Chenopodiaceae subfamily *Betoideae*. *Genetica*. 2011. V. 139. P. 1209–1216. DOI: 10.1007/s10709-011-9622-9
 34. Guchetl S.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova T.S. Optimization of broomrape DNA extraction (*Orobanchaceae* Wallr.) and identification of polymorphic RAPD and SSR loci for genotyping the oilseed parasite. *Scientific and technical bulletin of the All-Russian Scientific Research Institute of Oilseeds*. Krasnodar. 2013. No. 2. P. 17.
 35. Gui F.R., Wan F.H., Guo J.Y. Determination of the population genetic structure of the invasive weed *Ageratina adenophora* using ISSR-PCR markers. *Russ J Plant Physiol.* 2009. V. 56. P. 410–416. DOI: 10.1134/S1021443709030157
 36. Gustafsson A.L., Skrede I., Rowe H.C., Gussarova G., Borgen L., Rieseberg L.H., Brochmann C., Parisod C. Genetics of cryptic speciation within an Arctic mustard, *Draba nivalis*. *PLoS One*. 2014. V. 9(4): e93834. DOI: 10.1371/journal.pone.0093834
 37. He R.L., Han Y.L., Wang F., Liu J.Q., Wang L.H. Analysis on SSR information in transcriptome of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* and its polymorphism. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. 2018. V. 43. P. 1838–1843. DOI: 10.19540/j.cnki.cjcmm.20180307.002
 38. Huang S., Sirikhachornkit A., Faris J.D., Su X., Gill B.S., Haselkorn R., Gornicki P. Phylogenetic analysis of the acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase loci in wheat and other grasses. *Plant Mol Biol.* 2002. V. 48. P. 805–820. DOI: 10.1023/A:1014868320552
 39. Huang Q., Wang Z., Wang T., Su Y. Development and characterization of 23 polymorphic microsatellite loci for *Amentotaxus argotaenia* (Taxaceae), a relict vulnerable species. *Appl Plant Sci.* 2018. V. 23. 6(5):e01149. DOI: 10.1002/aps3.1149
 40. Ievina B., Syed N.H., Flavell A.J., Ievinsh G., Rostoks N. Development of retrotransposon-based SSAP molecular marker system for study of genetic diversity in sea holly (*Eryngium maritimum* L.). *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*. 2010. V. 8. P. 258–266. DOI: 10.1017/s1479262110000316
 41. Jarne P., Lagoda P.J. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends in Ecology & Evolution*. 1996. V. 11 P. 424–429.
 42. Ji F., Wei W., Liu Y., Wang G., Zhang Q., Xing Y., Zhang S., Liu Z., Cao Q., Qin L. Construction of a SNP-based high-density genetic map using genotyping by sequencing (GBS) and QTL analysis of nut traits in Chinese chestnut (*Castanea mollissima* Blume). *Front Plant Sci.* 2018. V. 14. 816. DOI: 10.3389/fpls.2018.00816
 43. Jing E., Gesta S., Kahn C.R. SIRT2 regulates adipocyte differentiation through FoxO1 acetylation/deacetylation. *Cell Metab.* 2007. V. 6. P. 105–114.
 44. Kachare S., Tiwari S., Tripathi N. Morphological and molecular assessment of genetic diversity of water chestnut (*Trapa natans*) from different ponds of central India. *World Research Journal of Cell Biology*. 2013. V. 1. P. 028–031.
 45. Kalaev V.N., Zemlyanukhina O.A., Karpechenko I.Yu., Karpechenko K.A., Kondratieva A.M., Veprintsev V.N., Karpechenko N.A., Karpova S.S., Moiseeva E.V., Baranova T.V. Using the methods of molecular genetic analysis to study the DNA polymorphism of plants of the genus *Rhododendron* for the purpose of their certification. Basic research.

Publishing House "Academy of Natural Sciences." Penza. 2012. No. 6. P. 323–328.

46. Kalendar R.N., Grob T., Regina M., Suoniemi A., Schulman A.H. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theor. Appl Genet.* 1999. V. 98. P. 704–711.

47. Kalendar R.N., Glazko V.I. Types of molecular-genetic markers and their application. *Physiology and Biochemistry of Cultivated Plants.* 2002. V. 34. P. 279–296.

48. Kalendar R.N., Schulman A.H. IRAP and REMAP for retrotransposon-based genotyping and fingerprinting. *Nature Protoc.* 2006. V. 1. P. 2478–2484.

49. Kalko G.V. The DNA markers for exploring of genetic resources of spruce and pine. *Proceedings of the Saint Petersburg Forestry Research Institute.* 2015. No. 4. P. 19–34.

50. Kalko G.V. The testing of nuclear microsatellite markers of Scots pine. *Proceedings of the Saint Petersburg Forestry Research Institute.* 2017. No. 1. P. 23–34.

51. Kanazin V., Blake T., Shoemaker R. Organization of the histone H3 genes in soybean, barley and wheat. *Mol. Gen. Genet.* 1996. V. 250. P. 137–147.

52. Karp A., Edwards K., Bruford M., Vosman B., Morgante M., Seberg O., Kremer A., Boursot P., Arctander P., Tautz D., Hewitt G. Newer molecular technologies for biodiversity evaluation: opportunities and challenges. *Nature Biotechnol.* 1997. V. 15. P. 625–628.

53. Khlestkina E.K. Molecular markers in genetic studies and breeding. *Russian Journal of Genetics: Applied Research.* 2014. T. 4. No. 3. P. 236–244. DOI: 10.1134/S2079059714030022

54. Kochieva E.Z., Oganisyan A.G. Molecular analysis of RAPD markers of the potato genome. *Agricultural biotechnology. Selected works.* Under. Ed. Shevelukha V.S. Eurasia. 2000. T. 1. P. 24–32.

55. Kuhn B.C., Mangolin C.A., Souto E.R., Vicient C.M., Machado M.F. Development of retrotransposon-based markers IRAP and REMAP for cassava (*Manihot esculenta*). *Genet Mol Res.* 2016. V. 15. DOI: 10.4238/gmr.15027149

56. Kuluev B.R., Artyukhin A.E., Shevchenko A.M., Mikhaylova E.V. 2017. Water caltrop *Trapa L.*: biology, habitat and the study of its isolated populations in the lakes of Nurimanovsky district in the Republic of Bashkortostan. *Biomics.* 2017. V. 9. No. 2. P. 101–118.

57. Kuluev B.R., Fateryga A.V., Kuluev A.R., Mikhaylova E.V., Chemeris A.V. The molecular genetic study of krim-saghyz (*Taraxacum hybernum* Steven) using SSR, RAPD and ISSR markers. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2018a. V. 22. P. 102–107. DOI 10.18699/VJ18.337

58. Kuluev B.R., Baymiev An.Kh., Gerashchenkov G.A., Chemeris D.A., Zubov V.V., Kuluev A.R., Baymiev Al.Kh., Chemeris A.V. Random priming PCR strategies for identification of multilocus DNA polymorphism in eukaryotes. *Russian Journal of Genetics.* 2018b. V. 54. No. 5. P. 499–513. DOI: 10.1134/S102279541805006X

59. Kuluev A.R., Matnijazov R.T., Kuluev B.R., Chemeris A.V. A molecular genetic research of the *Triticum sinskajae* A. Filat. et Kurk. by RAPD analysis and by comparing the nucleotide sequences of the variable intergenic region of the petN-trnC-GCA chloroplast genome and intron of the histone H3.2 gene. *Ecological Genetics.* 2018c. V. 16. P. 53–59. DOI: 10.17816/ecogen16153-59

60. Kuluev B.R., Shvets D.Yu., Golovanov Ya.M., Probatova N.S. *Thladiantha dubia* (Cucurbitaceae) in Republic of Bashkortostan - a dangerous weed with high invasive potential. *Russian Journal of Biological Invasions.* 2018d. No. 4. In press.

61. Kostyukova E.E., Zayakin VV, Nam I.Ya. Molecular genetic analysis of rare orchid species of the Bryansk region. *Bulletin of the Bryansk branch of the RBO.* 2013. No. 1. P. 51–55.

62. Li S.F., Wang L.J., Deng C.L., Gao W.J. Identification of male-specific AFLP and scar markers in the Dioecious plant *Humulus scandens*. *Mol Cell Probes.* 2017. V. 34. P. 68–70. DOI: 10.1016/j.mcP.2017.05.007

63. Li W., Gao Z., Xiao W., Wei Y., Liu Y., Chen G., Pu Z., Chen H., Zheng Y. Molecular diversity of restriction enzyme sites, indels and upstream open reading frames (uORFs) of 5' untranslated regions (UTRs) of *Waxy* genes in *Triticum L.* and *Aegilops L.* species. *Genetic Resources and Crop Evolution.* 2012. V. 59. P. 1625–1647.

64. Li X.L., Fan X.R., Chu H.J., Wei Li., Chen Y.Y. Genetic delimitation and population structure of three *Trapa* taxa from the Yangtze River, China. *Aquatic Botany.* 2017. V. 136. P. 61–70.

65. Li-Na G., Xue-Li Z., Xin-Fen G. De novo assembly and characterization of leaf transcriptome for the development of EST-SSR markers of the non-model species *Indigofera szechuensis*. *Biochemical Systematics and Ecology.* 2016. V. 68. P. 36–43.

66. Liu X., Zhang X., Shi Y., Tang D. Genetic diversity analysis of nine narcissus based on morphological characteristics and random amplified polymorphic DNA markers. *Hortscience.* 2017. V. 52. No. 2. P. 212–220. DOI: 10.21273/HORTSCI11171-16

67. Logacheva M.D., Penin A.A., Samigullin T.H., Vallejo-Roman C.M., Antonov A.S. Phylogeny of flowering plants by the chloroplast genome sequences: In search of a "lucky gene". *Biochemistry (Moscow).* 2007. V. 72. No. 12. P. 1324–1330. DOI: 10.1134/S0006297907120061

68. Luzhanin V.G., Rodionov A.V., Yakovlev G.P. Molecular-phylogenetic study of the genus *Ononis* L. (Fabaceae) in the flora of Russia and adjacent countries. *Botanicheskii Zhurnal*. 2013. V. 98. No. 5. P. 629–637.
69. Nadot S., Bajon R., Lejeune B. The chloroplast gene *rps4* as a tool for the study of Poaceae phylogeny. *Plant Syst. Evol.* 1994. V. 191. P. 27–38.
70. Nagy E.D., Molnár I., Schneider A., Kovács G., Molnár-Láng M. Characterization of chromosome-specific S-SAP markers and their use in studying genetic diversity in *Aegilops* species. *Genome*. 2006. V. 49. P. 289–296.
71. Nguyen T.X., Lee S.I., Rai R., Kim N.S., Kim J.H. Ribosomal DNA locus variation and REMAP analysis of the diploid and triploid complexes of *Lilium lancifolium*. *Genome*. 2016. V. 59. P. 551–564. DOI: 10.1139/gen-2016-0011
72. Mahatma M.K., Srivashtav V.S., Jha S. Genetic diversity analysis of date palm using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) and Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR). *Methods Mol Biol.* 2017. V. 1638. P. 105–112. DOI: 10.1007/978-1-4939-7159-6_10
73. Marwal A., Sahu A.K., Choudhary D.K., Gaur R.K. Complete nucleotide sequence of a begomovirus associated with satellites molecules infecting a new host tagetes patula in India. *Virus Genes*. 2014. V. 47. P. 194–198. DOI: 10.1007/s11262-013-0914-2
74. Matveeva T.V., Simonova A.V., Lutova L.A. Molecular markers of inbred radish (*Raphanus sativus* var. *Radicola pers*) lines. *Cell and Mol. Biol. Lett.* 2002. V. 7. P. 845–848.
75. Matveeva T. V., Pavlova O. A., Bogomaz D. I., Lutova L. A., Demkovich A. E. Molecular markers for plant species identification and phylogenetics. *Ecological Genetics*. 2011. V. 9. No. 1. P. 32–43.
76. McAssey E.V., Gudger E.G., Zuellig M.P., Burke J.M. Population genetics of the rubber-producing Russian dandelion (*Taraxacum kok-saghyz*). *PLoS One*. 2016. V. 11. DOI 10.1371/journal.pone.0146417
77. Melnikova N.V., Spranskaya A.S., Dariy M.V., Belenikin M., Dmitriev A.A., Kudryavtseva A.V. The use of molecular markers based on retrotransposons for studying the genetic diversity of plants. *Bulletin of the Russian State Agrarian Correspondence University*. 2003. No. 14. P. 32–35.
78. Ming-na L., Rui-cai L., Zi-rong F., Feng-qi L., Yan S., Kun Z., Jun-mei K., Zhen W., Shi-hao C. Transcriptome analysis of salt-responsive genes and SSR marker exploration in *Carex rigescens* using RNA-seq. *Journal of Integrative Agriculture*. 2018. V. 17. P. 184–196.
79. Mukrimin M., Kovalchuk A., Neves L.G., Jaber E.H.A., Haapanen M., Kirst M., Asiegbo F.O. Genome-wide exon-capture approach identifies genetic variants of Norway spruce genes associated with susceptibility to *Heterobasidion parviporum* infection. *Front Plant Sci*. 2018. V. 9. 793. DOI: 10.3389/fpls.2018.00793
80. Nechaeva Yu.S., Boronnikova S.V., Vidyakin A.I., Prishnivskaya Ya.V., Yusupov R.R. Molecular genetic analysis of populations of coniferous plants in the Urals and the east of the European part of Russia for the conservation and renewal of forest resources. *Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2014. V. 16. No. 1-3. P. 878–882.
81. Nikulin V. Yu., Gontcharov A.A. Molecular-phylogenetic characterization of *Sedum* (Crassulaceae) and closely related genera based on cpDNA gene *matK* and ITS rDNA sequence comparisons. *Botanicheskii Zhurnal*. 2017. V. 102. No. 3. P. 309–328.
82. Nimbale S., Behl R.K., Chhabra A.K. RAPD analysis for genetic polymorphism in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes varying for grain protein content. *The South Pacific J. Nat. Sci.* 2009. V. 27. P. 49–56. DOI: 10.1071/SP09009
83. Novikova A.A., Sheykina O.V., Novikov P.S., Doronina G.U. Evaluation of the possibility of using ISSR-markers for the systematization and genetic certification of plants of the genus *Rhododendron*. *Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University*. 2012. No. 82. P. 79–89.
84. Olmstead R.G., Sweere J.A. Combining data in phylogenetic systematics: An empirical approach using three molecular data sets in the Solanaceae. *Syst. Biol.* V. 43. P. 467–481.
85. Ouyang P., Kang D., Mo X., Tian E., Hu Y., Huang R. Development and characterization of high-throughput EST-based SSR markers for *Pogostemon cablin* using transcriptome sequencing. *Molecules*. 2018. V. 23. pii: E2014. DOI: 10.3390/molecules23082014
86. Pakhrou O., Medraoui L., Yatrib C., Alami M., Filali-Maltouf A., Belkadi B. Assessment of genetic diversity and population structure of an endemic Moroccan tree (*Argania spinosa* L.) based in IRAP and ISSR markers and implications for conservation. *Physiol Mol Biol Plants*. 2017. V. 23. P. 651–661. DOI: 10.1007/s12298-017-0446-7
87. Palombi M.A., Damiano C. Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev). *Plant Cell Reports*. 2002. V. 20. P. 1061–1066.
88. Pandotra P., Gupta A., Khan S., Ram G., Gupta S. A comparative assessment of ISSR, RAPD, IRAP, & REMAP molecular markers in *Zingiber officinale* germplasm characterization. *Scientia Horticulturae*. 2015. V. 194. P. 201–207.
89. Paux E., Faure S., Choulet F., Roger D., Gauthier V., Martinant J., Sourdille P., Balfourier F., Le

- Paslier M., Chauveau A., Cakir M., Gandon B., Feuillet C. Insertion site-based polymorphism markers open new perspectives for genome saturation and marker-assisted selection in wheat. *Plant Biotechnol.* 2010. V. 8. P. 196–210. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2009.00477.x
90. Polanco C., Ruiz M. AFLP analysis of somaclonal variation in *Arabidopsis thaliana* regenerated plants. *Plant Sci.* 2002. V. 162. P. 817–824.
91. Prażak R., Paczos-Grzęda E. Genetic similarity among *Aegilops kotschy* Boiss. with *Triticum aestivum* L. hybrid lines. *Romanian Agricultural Research.* 2017. Vol. 34. P. 15–23.
92. Prince L.M. Plastid primers for angiosperm phylogenetics and phylogeography. *Appl Plant Sci.* 2015. V. 3. pii: apps.1400085. DOI: 10.3732/apps.1400085
93. Prishnivska Ya.V., Nechayeva Yu.S., Krasilnikov V.P., Boronnikova S.V. Molecular genetic analysis of four populations of *Pinus silvestris* L. in the east of the Russian plain based on ISSR-marker polymorphism. *Bulletin of the Orenburg State University.* 2016. No. 2. P. 88–93.
94. Protopopova M.V., Pavlichenko V.V., Gnutikov A.A., Adelshin R.V., Chepinoga V.V. The use of genetic markers to assess the state of relict plant species of the Baikal Siberia. *Bulletin of Peoples' Friendship University of Russia. Series: Ecology and Life Safety.* 2015. No. 4. P. 28–36.
95. Queller D.C., Strassmann J.E., Hughes C.R. Microsatellites and kinship. *Trends in Ecology and Evolution.* 1993. V. 8. P. 285–288.
96. Rani V., Parida A., Raina S.N. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers for genetic analysis in micropropagated plants of *Populus deltoides* Marsh. *Plant Cell Rep.* 1995. V. 14. P. 459–462. DOI: 10.1007/bf00234055
97. Reddy, R.P., Sarla, N., Siddiq, E.A. Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica.* 2000. V. 128. P. 9–17.
98. Reunova G.D., Kats I.L., Muzarok T.I., Zhuravlev Y.N. Polymorphism of RAPD, ISSR and AFLP markers of the *Panax ginseng* C. A. Meyer (Araliaceae) genome. *Russian Journal of Genetics.* 2010. V. 46. No. 8. P. 938–947. DOI: 10.1134/S1022795410080053
99. Rohlf F.J. NTSYSpc numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 5.1. Exeter Publishing Ltd., Setauket, N.Y. 2001.
100. Romero G., Adeva C., Battad Z. Genetic fingerprinting: advancing the frontiers of crop biology research. *Phil Sci Lett.* 2009. V. 2. P. 8–13.
101. Ronikier M. The use of AFLP markers in conservation genetics - a case study on *Pulsatilla vernalis* in the polish lowlands. *Cell Mol Biol Lett.* 2002. V. 7. P. 677–684.
102. Roy N.S., Lee S.I., Nkongolo K., Kim N.S. Retrotransposons in *Betula nana*, and interspecific relationships in the Betuloideae, based on Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism (IRAP) markers. *Genes Genomics.* 2018. V. 40. P. 511–519. DOI: 10.1007/s13258-018-0655-7
103. Sagyndykova MS, Imanbaeva A.A., Sarsenbayev K.N. Study of the medicinal plant *Ferula foetida* using RAPD-PCR DNA analysis in natural populations of Mangystau. In collection: *Biological features of medicinal and aromatic plants and their role in medicine collection of scientific papers of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 85th anniversary of VILAR.* 2016. P. 149–152.
104. Savelkoul P.H., Aarts H.J., De Haas J., Dijkshoorn L., Duim B., Otsen M., Rademaker J.L., Schouls L., Lenstra J.A. Amplified-fragment length polymorphism analysis: the state of an art. *J Clin Microbiol.* 1999. V. 37. P. 3083–3091.
105. Senerchia N., Felber F., Parisod C. Contrasting evolutionary trajectories of multiple retrotransposons following independent allopolyploidy in wild wheats. *New Phytol.* 2014. V. 202. P. 975–985. DOI: 10.1111/nph.12731
106. Simchuk A.P., Ivashov A.V., Oberemok V.V., Gurbuz M.F. Influence of genetic variability of oak fluffy oak and green oak moth on the components of fitness of its parasite *Brachimeria intermedia* (Hymenoptera: chalcididae). *Ecosystems, their optimization and protection.* 2015. V. 6. P. 115–120.
107. Sobrino B., Brion M., Carracedo A. SNPs in forensic genetics: a review on SNP typing methodologies. *Forensic Sci Int.* 2005. V. 154. P. 181–194.
108. Sorkheh K., Amirbakhtiar N., Ercisli S. Potential start codon targeted (SCoT) and Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism (IRAP) markers for evaluation of genetic diversity and conservation of wild *Pistacia* species population. *Biochem Genet.* 2016. V. 54. P. 368–387. DOI: 10.1007/s10528-016-9725-1
109. Sorkheh K., Dehkordi M.K., Ercisli S., Hegedus A., Halász J. Comparison of traditional and new generation DNA markers declares high genetic diversity and differentiated population structure of wild almond species. *Sci Rep.* 2017. V. 7. P. 5966. DOI: 10.1038/s41598-017-06084-4
110. Spiridovich E.V., Fomenko T.I., Vlasova AB, Mazur T.V., Yukhimuk A.N. Biochemical and molecular genetic analysis of *Agastache rugosa* (Fisch. et Mey.) Kuntze in the culture *in vitro*. *Bulletin of pharmacy.* 2012. No. 4. P. 75–87.

111. Sukhareva A.S., Kuluev B.R. DNA markers for genetic analysis of crops. *Biomcs*. 2018. V. 10. No. 1. P. 69–84. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2018-15
112. Sulimova G.E. DNK-markers in genetic studies: types of markers, their characteristics and application. *Uspekhi Sovremennoy Biologii*. 2011. V. 9. P. 32–43.
113. Svetlakova T.N., Boboshina I.V., Boronnikova S.V., Nechaeva Yu.S. Ecological and genetic analysis of population structure of *Populus tremula* L. in Perm region. *Ecological Genetics*. 2012. V. 10. No. 3. P. 22–27.
114. Taberlet P., Gielly L., Pautou G., Bouvet J. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Mol Biol*. 1991. V. 17. P. 1105–1109.
115. Tang S., Dai W., Li M., Zhang Y., Geng Y., Wang L., Zhong Y. Genetic diversity of relictual and endangered plant *Abies ziyuanensis* (Pinaceae) revealed by AFLP and SSR markers. *Genetica*. 2007. V. 133 P. 21–30.
116. Tsuchihashi Z., Dracopoli N. Progress in high throughput SNP genotyping methods. *Pharmacogenomics*. 2002. V. 2. P. 103–110.
117. Tukhvatullina L.A., Abramova L.M. Rare resource bows wild flora of Bashkortostan in the conditions of introduction. *Bulletin of the Orenburg State Agrarian University*. 2012. No. 1. P. 33–35.
118. Vakhitov V.A., Chemeris A.V., Sabirzhanov B.E., Akhunov E.D., Kulikov A.M., Nikonorov Yu.M., Gimalov F.R., Bikbulatova S.M., Baymiev Al.Kh. The phylogeny of *Triticum* L. and *Aegilops* L. inferred from comparative analysis of nucleotide sequences in rDNA promoter regions. *Russian Journal of Genetics*. 2003. V. 39. No. 1. P. 1–11. DOI: 10.1023/A:1022095224123
119. Van de Peer Y. Treecon for Windows: a software package for the construction and drawing evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. *Computer Application in the Biosciences*. 1994. V.10. No. 5. P. 569–570.
120. Vos P.R., Hogers M., Bleeker M. T Van De Lee, Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res*. 1995. V. 23. P. 4407–4414.
121. Waugh R., Mclean K., Flavell J., Pearce S.R., Kumar A., Thomas B., Powell W. Genetic distribution of bare-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by Sequence-Specific Amplification Polymorphisms (S-SAP). *Mol. Gen. Genet*. 1997. V. 253. P.687–694.
122. Williams J.G., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*. 1990. V. 8. P. 6531–6535.
123. Yanbaev R.Yu., Gabitova A.A., Sultanova R.R., Boronnikova S.V., Yanbaev Yu.A. ISSR analysis of DNA polymorphism of pedunculate oak: arguments in favor of using local plantations for reforestation of seeds. *Proceedings of the Orenburg State Agrarian University*. 2017. No. 1. P. 220–222.
124. Yang M., Han N., Li H., Meng L. Transcriptome analysis and microsatellite markers development of a traditional Chinese medicinal herb *Halenia elliptica* D. Don (Gentianaceae). *Evol Bioinform Online*. 2018. V. 14. DOI: 10.1177/1176934318790263
125. Zabeau M., Vos P. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. European patent application 92402629.7 (publ. n. 0 534 858 a1). 1993.
126. Zaretskaya M.V., Fedorenko O.M. Genetic diversity and population structure of the species *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. on Valaam island. *Transactions of Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences*. 2016. No. 11 P. 9–16.
127. Zawko G., Krauss S., Dixon K.W., Sivasithamparam K. Conservation genetics of the rare and endangered *Leucopogon obtectus* (Ericaceae). *Mol. Ecol*. 2001 V. 10 P. 2389–2396.
128. Ziętkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple-sequence repeat (SSR) - anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*. 1994. V. 20. P. 176–183.