

УДК 633.11:575.174.015.3:577.2.08

## ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ УРАЛА СОРТОВ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЖМИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА ДНК

<sup>1,2</sup>Бобошина И.В., <sup>1,2</sup>Боронникова С.В.

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»,  
Пермь, e-mail: coccinela@yandex.ru;

<sup>2</sup>Естественнонаучный институт ПГНИУ, Пермь

В статье приведены результаты молекулярно-генетического анализа 26 сортов *Triticum aestivum* L. с использованием ISSR-метода (Inter Simple Sequence Repeat) анализа полиморфизма ДНК на основе ПЦР. Выявлено 60 ISSR-маркеров. Установлено, что доля полиморфных локусов изученных сортов *T. aestivum* поддерживается на высоком уровне ( $P_{95} = 0,83$ ). Число амплифицированных фрагментов ДНК варьировалось в зависимости от праймера от 10 (праймеры M1, X11) до 15 (праймер X10), а их размеры – от 170 до 1770 п.н. В среднем один праймер инициировал синтез 12 фрагментов ДНК. Показано, что ISSR-метод анализа полиморфизма ДНК информативен при идентификации сортов пшеницы мягкой. Полученные результаты могут быть использованы в селекционных программах, для защиты авторских прав и для контроля за оборотом сортового семенного материала пшеницы мягкой.

**Ключевые слова:** *Triticum aestivum* L, ISSR-анализ, молекулярно-генетическая идентификация, полиморфизм ДНК

## IDENTIFICATION PERSPECTIV FOR URAL OF GRADES OF WHEAT WITH USE OF THE ISSR-ANALYSIS OF POLYMORPHISM OF DNA

<sup>1,2</sup>Boboshina I.V., <sup>1,2</sup>Boronnikova S.V.

<sup>1</sup>Perm State University, Perm, e-mail: coccinela@yandex.ru;

<sup>2</sup>The Naturalscience Institute of Perm State University, Perm

Results of the molecular and genetic analysis of 26 grades of *Triticum aestivum* L with use of PCR and an ISSR method (Inter Simple Sequence Repeat) of the analysis of polymorphism of DNA are given in article. 60 ISSR markers are revealed. It is established that the share of polymorphic loci of the studied grades of *T. aestivum* is supported at high level ( $P_{95} = 0,83$ ). The number of fragments of DNA varied depending on a primer from 10 (M1, X11 primers) to 15 (X10 primer), and their sizes – from 170 to 1770 b.p. On the average one primer initiated synthesis of 12 fragments of DNA. It is shown that the ISSR method of the analysis of polymorphism of DNA is informative at identification of grades of wheat. The received results can be used in selection programs, for protection of copyright and for control of a turn of a high-quality seed material of wheat.

**Keywords:** *Triticum aestivum* L, ISSR- analysis, molecular and genetic identification, polymorphism of DNA

Пшеница является основной зерновой культурой для 35% населения земного шара, под посевами которой занято 216 млн га. Исследование генетического разнообразия сортов пшеницы мягкой (*Triticum aestivum* L.) может предоставить существенную информацию относительно ее потенциала в селекционных целях [11]. Ежегодно селекционными учреждениями создаются и передаются для коммерческого использования сотни новых сортов. Из-за ограниченного количества родительских ресурсов в размножении число подобных сортов пшеницы быстро растет, что приводит к перекрыванию сортов на рынке семян. С увеличением числа новых подобных или тесно связанных сортов пшеницы все более важным становится процесс регистрации культурного сорта, его сертификации и защиты авторских прав селекционеров [14]. Генетическая идентификация и паспортизация различных линий и сортов позволяют также избежать и нелегального распространения перспективного селекционного материала.

Генетическая паспортизация представляет собой метод получения генетически детерминированных характеристик с помощью морфологических или молекулярных маркеров. На сегодняшний день проведение генетической паспортизации считается актуальной задачей современной селекции. В мировой практике для индивидуальной паспортизации объектов лесного и сельского хозяйства используют преимущественно ДНК-маркеры [4]. Молекулярные маркеры отличаются высоким уровнем полиморфизма между сортами и могут эффективно использоваться для оценки общих генетических характеристик [11].

Для исследований межсортового полиморфизма, выявления генетического сходства/отдаленности генотипов разных сортов пшеницы с целью их дифференциации и паспортизации нами был избран ISSR-метод (Inter Simple Sequence Repeat [15]). В настоящее время ISSR-метод широко используется при выявлении внутривидового полиморфизма, в первую очередь у близкородственных генотипов культивируемых

растений [3]. При ISSR-PCR анализе микросателлитные последовательности используются в качестве праймеров в полимеразной цепной реакции для создания мультилокусных спектров. ISSR-маркеры полиморфны и могут быть использованы в исследованиях генетического разнообразия, филогении, молекулярном маркировании геномов хлебных злаков. Используемые ISSR-праймеры могут быть ди-, три-, тетра- или пентануклеотидными мотивами микросателлитов, давая огромное количество возможных продуктов амплификации.

Идентификация сортов пшеницы мягкой с высоким адаптивным потенциалом является актуальной задачей для Урала, климат которого характеризуется холодной продолжительной и снежной зимой, теплым коротким летом и ярко выраженными температурными инверсиями [7].

Цель нашего исследования – молекулярно-генетическое маркирование и идентификация перспективных для Урала сортов *T. aestivum* с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК.

#### Материалы и методы исследования

Материалом для исследования служили свежие листья 26 перспективных для возделывания на Урале сортов пшеницы мягкой: Московская 39, Волжская К, Иргина, Ирень, Стрела, Краснофимская 100, Свеча, Горноуральская, Терция, Экада 70, Экада 109, Штру 05, Штру 06, Икар, Баженка, Гамлет, Диаблон, Терси, Уралосибирская, Ярица, Краснофимская 110, Башкирская 4, Башкирская 26, Башкирская 28, Жница и Фотос. Семена сортов были получены из ГНУ «Пермский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» РАСХН (г. Пермь), Ординского и Березовского сортоучастков ГСУ Пермского края и ГНУ «Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» (г. Уфа). Для сортов, выращиваемых в Пермском крае, относящемся к зоне рискованного земледелия из-за укороченного вегетационного периода [7], необходимыми качествами сортов являются устойчивость к засухе и раннее созревание, а для сортов, возделываемых в соседнем регионе (республике Башкортостан), для которого характерны резкие колебания температуры в течение суток и сильная дифференциация в распределении осадков на территории, – устойчивость к заморозкам и засухе.

Выделение ДНК проводили из проростков 26 сортов пшеницы мягкой в 2010–2012 гг. по методике А. Торреса соавторами [12]. Навеска свежих листьев составляла 100 мг. Концентрацию и спектральные характеристики ДНК определяли на приборе Spectrofotometr™ NanoDrop 2000 («Thermo scientific», USA). Геномная ДНК была разбавлена до концентрации 10 нг/мкл в ТЕ-буфере. Молекулярно-генетический анализ проведен с использованием ISSR-метода анализа полиморфизма ДНК. Амплификацию ДНК проводили в термоциклере Gene Amp PCR System 9700 («Applied Biosystems», США) по типичной для ISSR-метода программе [6]. Подбор ISSR-праймеров был произведен по эффективности выявления полиморфизма ДНК, рассчитанной в соот-

ветствии со шкалой 1–5: от низкой (1) до высокой (5) [5]. Температура отжига для каждого праймера высчитывалась отдельно [6]. Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 2%-м агарозном геле. Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp + 1,5 + 3 Kb DNA Ladder) (ООО «СибЭнзим-М», Москва).

Компьютерный анализ молекулярно-генетического полиморфизма ДНК проведен с помощью специализированного макроса GenAlEx6 для MS-Excel с определением доли полиморфных локусов [13] при  $P_{95}$ . Для ISSR-анализа сортов были рассчитаны матрицы бинарных признаков. Генетическое расстояние (D) между сортами определено по формуле М. Нея и В. Ли [10]. На основе матриц бинарных признаков были рассчитаны матрицы генетических различий [9]. По матрице генетических различий невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA – unweighed pair-group method using arithmetic average) была построена дендрограмма, отражающая степень родства исследуемых сортов по ISSR-спектрам при помощи компьютерных программ Treecon 1.3b и POPGENE 1.32.

#### Результаты исследований и их обсуждение

Каждый праймер индивидуально был проанализирован в ISSR-ПЦР с геномной ДНК *T. aestivum*. Нами протестировано 23 ISSR-праймера (табл. 1), из которых для дальнейшего анализа отобраны 5 наиболее информативных, то есть дающих четкие и строго воспроизводимые в повторных ПЦР ISSR-маркеры.

Для выявления сортовых различий и составления генетических паспортов для каждого сорта пшеницы мягкой была проведена ПЦР с каждым из 5 информативных ISSR-праймеров. На основании полученных спектров ампликонов были составлены матрицы, отражающие наличие или отсутствие соответствующего ампликона, характерного для каждого из праймеров (наличие ампликона обозначалось цифрой 1, отсутствие – цифрой 0). У всех изученных 26 сортов *T. aestivum* наличие или отсутствие ампликонов показано в качестве примера одного (X10) из ISSR-праймеров (табл. 2).

У 26 исследуемых сортов *T. aestivum* выявлено 60 ISSR-маркеров. Установлено, что доля полиморфных локусов изученных сортов *T. aestivum* поддерживается на высоком уровне ( $P_{95} = 0,83$ ). Число амплифицированных фрагментов ДНК варьировалось в зависимости от праймера от 10 (праймеры M1, X11) до 15 (праймер X10), а их размеры – от 170 до 1770 п.н. В среднем при ISSR-анализе сортов *T. aestivum* один праймер инициировал синтез 12 фрагментов ДНК. Амплифицированные фрагменты ДНК были отнесены к мономорфным, если частота их встречаемости была  $> 0,95$ . Фрагменты с меньшей частотой встречаемости были отнесены к полиморфным.

Таблица 1

## Эффективность ISSR-праймеров

№ п/п	Праймер	Нуклеотидная последовательность праймера (5'→3')	Температура отжига праймера (T <sub>m</sub> , °C)	Эффективность праймера
1	M1	aca-cac-aca-cac-aca-ccg	56	5
2	M2	aca-cac-aca-cac-aca-ccc	56	1
3	M3	aca-cac-aca-cac-aca-cct	54	5
4	M9	gac-acg-aca-cga-cac-gac-ac	62	2
5	M27	gag-aga-gag-aga-gag-ac	52	5
6	X1	cac-aca-cac-aca-g	61	1
7	X9	acc-acc-acc-acc-acc-acc-g	64	3
8	X10	agc-agc-agc-agc-agc-agc-c	64	5
9	X11	agc-agc-agc-agc-agc-agc-g	64	5
10	ISSR-1	aca-cac-aca-cac-aca-ct	50	4
11	ISSR-3	tgt-gtg-tgt-gtg-tgt-gaa	52	3
12	ISSR-4	tgt-gtg-tgt-gtg-tgt-ggc	56	2
13	ISSR-5	aga-gag-aga-gag-aga-gca	54	4
14	ISSR-6	aga-gag-aga-gag-aga-gcg	56	4
15	ISSR-7	ctc-ctc-ctc-ctc-ctc-ctc-c	64	2
16	ISSR-8	gag-gag-gag-gag-gag-gag-c	64	1
17	ISSR-9	acg-acg-acg-acg-acg-acg-g	64	2
18	ISSR-10	atg-atg-atg-atg-atg-atg-c	60	2
19	CR-212	ctc-tct-ctc-tct-ctc-ttg	54	3
20	CR-215	cac-aca-cac-aca-gt	42	4
21	CR-216	gag-aga-gag-aga-gg	44	1
22	CR-217	gtg-tgt-gtg-tgt-gg	44	2
23	CR-218	gag-aga-gag-aga-cc	44	4

Примечания: M1 – CR-218 – обозначения праймеров; шкала эффективности праймеров: 5 – очень высокая; 4 – высокая; 3 – средняя; 2 – низкая; 1 – очень низкая [5].

Таблица 2

Наличие или отсутствие ампликонов, выявляемых с использованием праймера X10 у 26 сортов *T. aestivum*

Сорт	Ампликон, п.н.															
	1770	1180	950	840	670	620	550	480	450	400	370	340	300	250	200	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	Московская 39	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0
2	Волжская К	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
3	Иргина	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
4	Ирень	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
5	Стрела	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	0
6	Красноуфимская 100	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
7	Свеча	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0
8	Горноуральская	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
9	Терция	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
10	Экада 70	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0
11	Экада 109	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	0
12	Штру 06	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0
13	Штру 05	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	0	0
14	Икар	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0
15	Баженка	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
16	Гамлет	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0
17	Диаблон	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0
18	Терси	0	0	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0
19	Уралосибирская	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	1	0
20	Ярица	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0
21	Красноуфимская 110	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0
22	Башкирская 4	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
23	Башкирская 26	0	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0
24	Башкирская 28	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
25	Жница	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0
26	Фотос	0	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1

Примечания: Московская 39 – Фотос – название сортов; 1770–200 – длины ISSR-маркеров, выявленные с помощью праймера X10; темно-серым цветом выделены сортоспецифичные фрагменты, серым – полиморфные фрагменты; светло-серым – видовые фрагменты.

Использованные в работе ISSR-праймеры (M1, M3, M27, X10, X11) позволили получить для каждого сорта оригинальный спектр ампликонов и показали высокую информативность и стабильность. Нами было выявлено девять ISSR-фрагментов, характерных для всех 26 исследованных сортов *T. aestivum*, и три фрагмента – характерных для представителей только одного конкретного сорта, то есть сортоспецифичные. В частности, у образцов сорта Московская 39 присутствовал один уникальный фрагмент размером 670 п.н. (праймер X10), идентифицировались фрагменты, специфичные для сортов Волжская К (850<sub>X11</sub>) и Фотос (200<sub>X10</sub>). Для каждого сорта был получен индивидуальный спектр ISSR-фрагментов. Эти фрагменты использованы нами при

составлении молекулярно-генетических формул каждого из 26 исследуемых сортов *T. aestivum*. Четко воспроизводимые ISSR-фрагменты, выявленные у всех 26 сортов, мы обозначили как «видовые» и обозначили их «v» от «vid». Фрагменты, которые были выявлены только у некоторых сортов, мы обозначили как полиморфные – «p» от «polymorph» [1]. Сортоспецифичные фрагменты мы обозначили как «us» от «unique + sort» (уникальный сортовой). Нами были установлены специфичные для каждого сорта сочетания ISSR-фрагментов. Для идентификации сортов было отобрано по 4 видовых, 4 полиморфных и 1 сортоспецифичному ISSR-фрагменту. Например, молекулярно-генетическая формула сорта Фотос выглядит следующим образом (табл. 3):

Таблица 3

Молекулярно-генетическая формула сорта Фотос *T. aestivum*

Обозначение сорта	Тип фрагментов ДНК	Молекулярно-генетическая формула
Та_фот	vid	Ta_фот <sub>v</sub> 840 <sub>X10</sub> , Ta_фот <sub>v</sub> 680 <sub>X11</sub> , Ta_фот <sub>v</sub> 440 <sub>M3</sub> , Ta_фот <sub>v</sub> 370 <sub>M1</sub>
	polimorph	Ta_фот <sub>p</sub> 1180 <sub>X10</sub> , Ta_фот <sub>p</sub> 680 <sub>M3</sub> , Ta_фот <sub>p</sub> 460 <sub>M27</sub> , Ta_фот <sub>p</sub> 330 <sub>X11</sub>
	unique + sort	Ta_фот <sub>us</sub> 200 <sub>X10</sub>

Генотипы 26 изученных сортов пшеницы мягкой на основании ISSR-анализа имеют ряд индивидуальных генетических отличий. Наибольшее сходство имеют ISSR-маркеры сортов Икар и Баженка (95,0%). Наименьшее сходство выявленных ISSR-маркеров (48,3%) имеют сорта Иргина и Красноуфимская 110, Горноуральская и Красноуфимская 110.

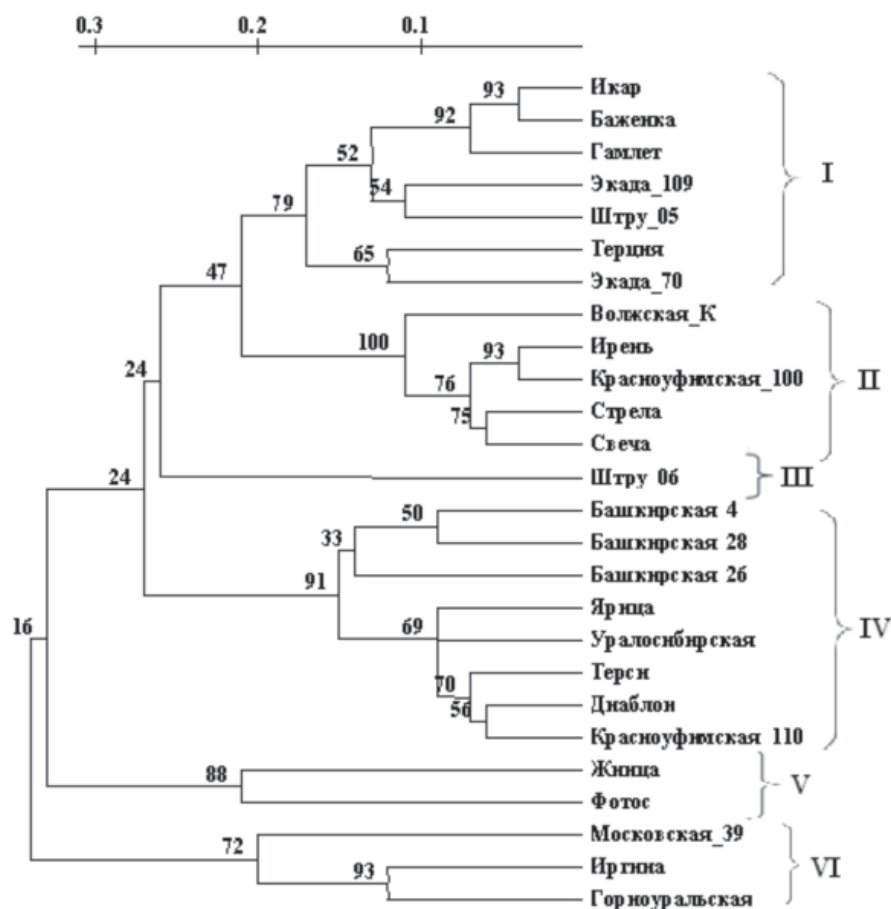
Рассчитанные на основе ISSR-спектров и данных о полиморфизме ДНК-фрагментов

коэффициенты попарных генетических различий у разных сортов *T. aestivum* варьировались от 0,051 до 0,727. На основании полученной матрицы невзвешенным парно-групповым методом (UPGMA) была построена дендрограмма, отражающая степень родства исследуемых сортов по ISSR-спектрам. Дендрограмма, построенная по данному кластерного анализа, выявила четкую сортовую дифференциацию *T. aestivum*, разделив исследованные сорта на шесть



основных групп (рисунок). Согласно нашим результатам 7 сортов сгруппировались в группу I, 5 сортов – в группу II, в группе III отмечен 1 сорт, в группе IV – 8 сортов,

в группе V – 2 сорта и в последней группе (VI) – 3 сорта. Межсортовые группировки каждой клады поддерживались высокими значениями бутстрепа (от 50 до 93 %).



UPGMA-дендрограмма генетического сходства 26 сортов *T. aestivum*, построенная на основании полиморфизма 60 ISSR-маркеров. Шкала сверху – генетические дистанции [9]. На дендрограмме цифрами указаны значения бутстрепа (в %)

Первый кластер был представлен сортами, характеризующимися высокой адаптивностью к засухе [8] – Икар, Баженка, Гамлет, Экада 109, Штру 05, Терция и Экада 70. Второй кластер образовали ранне- и средне-спелые сорта – Ирень, Красноуфимская 100, Волжская К, Стрела и Свеча. Особенностью третьего кластера является то, что в него вошел только один сорт Штру 06, что по нашему предположению может быть связано с его происхождением (сорт немецкой селекции). Сорта IV группы – среднеспелые (Башкирская 4, Башкирская 26, Башкирская 28, Ярица, Уралосибирская, Терси, Диаблон, Красноуфимская 110). Группу V составили два сорта, что можно объяснить их хорошей устойчивостью к ранним весенним и осенним заморозкам. Сорта IV группы пластичны в изменяющихся условиях среды [8].

Проведенные исследования позволили провести молекулярно-генетическую иден-

тификацию перспективных для возделывания на Урале сортов пшеницы мягкой и открыли возможность изучения взаимосвязи генетических и агрономических характеристик сортов *T. aestivum*, а также механизмов устойчивости в резко изменяющихся условиях Пермского края, относящегося к зоне рискованного земледелия [7], и республики Башкортостан, в которой в последние годы отмечены засушливые периоды [2].

### Заключение

Таким образом, у изученных 26 сортов *T. aestivum* выявлено 60 ISSR-маркеров. Установлено, что доля полиморфных локусов у этих сортов высока ( $P_{95} = 0,83$ ). Определены мономорфные, полиморфные и сортоспецифические ISSR-маркеры. Для каждого из 26 изученных сортов пшеницы мягкой получены уникальные ISSR-спектры, составлены молекулярно-генети-

ческие формулы и генетические паспорта. На основе вариабельности межмикросателлитных последовательностей у исследованных сортов определена степень генетических различий и построена дендрограмма. Полученные результаты могут быть использованы в селекционных программах при генетической идентификации сортов, для защиты авторских прав и для контроля за распространением перспективного селекционного материала.

*Работа выполнена в соответствии с государственным заданием на оказание услуг, частично финансируемых Министерством образования и науки РФ из средств федерального бюджета, на оборудовании, закупленном в ходе реализации проекта развития Пермского национального исследовательского университета.*

### Список литературы

1. Боронникова С.В. Молекулярно-генетическая идентификация и паспортизация редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений: монография. – Пермь: Перм. ун-т, 2008. – 120 с.
2. Государственный доклад о состоянии природных ресурсов и окружающей среды Республики Башкортостан в 2010 году. – Уфа, 2011. – 343 с.
3. Анализ геномного разнообразия образцов и сортов гречихи посевной и татарской ISSR-методом / Г.Д. Кадырова, Ф.З. Кадырова, Е.В. Мартиросян [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2010. – № 5. – С. 42–48.
4. Использование методов молекулярно-генетического анализа для изучения полиморфизма ДНК растений рода *Rhododendron* с целью их паспортизации / В.Н. Калаев, О.А. Землянухина, И.Ю. Карпеченко [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 6. – С. 323–328.
5. Календарь Р.Н., Боронникова С.В. Анализ молекулярно-генетического полиморфизма природных популяций редких видов растений Урала с помощью ретротранспозонов // Биотехнология, состояние и перспективы развития: материалы Четвертого Московского международного конгресса. – М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2007. – Ч.2. – С. 121.
6. Молекулярная генетика: учеб.-метод. пособие / под ред С.В. Боронниковой. – Пермь: Перм. ун-т, 2007. – 150 с.
7. Назаров Н.Н. География Пермского края. Ч.1. Природная (физическая) география. – Пермь, 2006. – 139 с.
8. Результаты сортоиспытания сельскохозяйственных культур на госсортоучастках Пермского края за 2011 год: брошюра. – Пермь, 2011. – 73 с.
9. Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. – 1972. – Vol. 106. – P. 283–292.
10. Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 1979. – Vol. 76. – P. 5269–5273.
11. Sofalian O., Chaparzadeh N., Dolati M. Genetic diversity in spring wheat landraces from northwest of Iran assessed by ISSR markers // Not. Bot. Hort. Agrobot. – 2009. – № 37 (2). – P. 252–256.
12. Torres A.M., Weeden N.F., Martin A. Linkage among sozyme, RFLP and RAPD markers in *Vicia faba* // Theor. Appl. Genet. – 1993. – Vol. 5. – P. 937–945.
13. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers / J.G.K. Williams, A.R. Kubelik, K.J. Livak [et al.] // Nucl. Acids Res. – 1990. – Vol. 18. – P. 6531–6535.

14. Fingerprinting and identification of closely related wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using ISSR and fluorescence-labeled TP-M13-SSR markers / S. Zhu, J. Hu, R. Han [et al.] // Australian Journal of Crop Science (AJCS). – 2011. – Vol. 5 (7). – P. 846–850.

15. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. – 1994. – Vol. 20. – P. 176–183.

### References

1. Boronnikova S.V. Moleculyarno-geneticheskaya identifikatsiya i pasportizatsiya redkih i nahodyaschihsya pod ugrozoi ischezoveniya vidov rastniy [Molecular and genetic identification and certification of types of plants rare and being under the threat of disappearance]. Perm, Perm.Univ, 2008. 120 p.
2. Gosudarstveniy doklad o sostiyanii prirodnih resursov i okruzhayushey srede Respubliki Bashkortostan v 2010 godu [The state report on a condition of natural resources and of environment of the Republic of Bashkortostan in 2010]. Ufa, 2011. 343 p.
3. Kadyrova G.D., Kadyrova F.Z., Martirosyan E.V., Ryzhova N.N. Selskohozyaystvennaya biologiya, 2010, pp. 42–48.
4. Kalaev V.N., Zemlyanuhina O.A., Karpechenko I.YU., Karpechenko K.A., Kondrateva A.M., Veprintsev V.N., Karpechenko N.A., Karpova S.S., Moiseeva E.V., Baranova T.V. Fundamentalnye issledovaniya, 2012, no. 6, pp. 323–328.
5. Kalendar R.N., Boronnikova S.V. Materialy 4 Moskovskogo mezhdunarodnogo kongressa «Biotehnokogiya: sostoyanie i perspektivy razvitiya» (Materials of the 4th Moscow international congress «Biotechnology-condition and development prospects»). Moscow 2007, pp. 121.
6. Molekulyarnaya genetika [Molecular genetics]. Perm, Perm.Univ, 2007. 150 p.
7. Nazarov N.N. Geografiya Permskogo kraya. Ch.1. Prirodnaya (fizicheskaya) geografiya [Geography of Perm Krai. Vol.1. Natural (physical)]. Perm, 2006. 139 p.
8. Rezultaty sortoispytaniya selskohozyaystvennykh kultur na gossortouchastkah Permskogo kraya za 2011 god [Results of test of a grades of crops on the state section with grades of Perm Krai for 2011]. Perm, 2011. 73 p.
9. Nei M. Amer. Naturalist, 1972, Vol. 106, pp. 283–292.
10. Nei M., Li W.-H. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1979, Vol. 76, pp. 5269–5273.
11. Sofalian O., Chaparzadeh N., Dolati M. Not. Bot. Hort. Agrobot, 2009, no. 37 (2), pp. 252–256.
12. Torres A.M., Weeden N.F., Martin A. Theor. Appl. Genet, 1993, Vol. 5, pp. 937–945.
13. Williams J.G., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. Nucl. Acids., 1990, Vol.1 8, pp. 6531–6535.
14. Zhu Y., Hu J., Han R., Wang Y., Zhu S. Australian Journal of Crop Science (AJCS), 2011, Vol. 5 (7), pp. 846–850.
15. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genomics, 1994, Vol. 20, pp. 176–83.

### Рецензенты:

Переведенцева Л.Г., д.б.н., профессор, профессор кафедры ботаники и генетики растений ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», г. Пермь;

Янбаев Ю.А., д.б.н., профессор, профессор кафедры лесоводства и ландшафтного дизайна факультета землеустройства и лесного хозяйства ФГБОУ ВПО «Башкирский государственный аграрный университет», г. Уфа.

Работа поступила в редакцию 04.04.2012