УДК 577.21:582.912.42

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДОВ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ПОЛИМОРФИЗМА ДНК РАСТЕНИЙ РОДА RHODODENDRON С ЦЕЛЬЮ ИХ ПАСПОРТИЗАЦИИ

[1]Калаев В.Н., [2]Землянухина О.А., [2]Карпеченко И.Ю., [2]Карпеченко К.А., [1]Кондратьева А.М., [1]Вепринцев В.Н., [1]Карпеченко Н.А., [1] Карпова С.С., [1]Моисеева Е.В., [1]Баранова Т.В.

[1]Воронежский государственный университет, Воронеж, e-mail: dr_huixs@mail.ru;
[2]Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции, Воронеж, e-mail: nikitakarpechenko@rambler.ru

В статье приведены результаты исследования по использованию молекулярно-генетического анализа на основе ПЦР с использованием шести RAPD-праймеров. Исследование проводилось на 8 видах представителей рода Rhododendron L. с целью выявления индивидуальных спектров ампликонов и дальнейшей паспортизации. Число амплифицированных фрагментов ДНК варьировалось в зависимости от праймера от 16 (праймер Oligo 2) до 18 (праймер Oligo 4, Oligo 6, Oligo 1), а их размеры – от 170 до 2800 п.н. В среднем, при RAPD-анализе у видов рода рододендрон один праймер инициировал синтез 18,16 фрагмента ДНК. Общее количество локусов амплификации для каждого праймера по 8 видам составило 104. На основе полученных данных было определено процентное сходство в структуре ДНК представителей разных видов. Показано, что данный вид ПЦР анализа является весьма информативным при паспортизации рододендронов, но, безусловно, результаты данной работы необходимо подкреплять другими видами молекулярно-генетических исследований.

Ключевые слова: ДНК, ампликон, праймер, рододендрон, молекулярно-генетический анализ, ПЦР

USE OF THE METHODS OF MOLECULAR GENETIC ANALYSIS FOR STUDY OF DNA POLYMORPHISM OF RHODODENDRON PLANTS FOR THE AIM OF THEIR CERTIFICATION

[1]Kalaev V.N., [2]Zemlyanukhina O.A., [2]Karpechenko I.Y., [2]Karpechenko K.A., [1]Kondratieva A.M., [1]Veprintsev V.N., [1]Karpechenko N.A., [1]Karpova S.S., [1]Moiseeva E.V., [1]Baranova T.V.

[1]Voronezh State University, Voronezh, e-mail: dr_huixs@mail.ru;
[2]Research Institute of Forest Genetics and Breeding, Voronezh, e-mail: nikitakarpechenko@rambler.ru

The results of the use of molecular genetic analysis with six RAPD-primers for PCR are described. The study was conducted with 8 species of the genus of Rhododendron L. to identify the individual spectra of amplicons and further certification. The number of amplified DNA fragments varied depending on the primer (from 16 for Oligo 2 and 18 for Oligo 4, Oligo 6, Oligo 1), and the size of amplified DNA fragments varied from 170 to 2800 bp. On average, one primer initiated the synthesis of 18.16 DNA fragments during the RAPD-analysis of the species of the genus Rhododendron. For 8 species the total number of loci which were amplified for each primer, was 104. Based on these results, it was determined the percentage of similarity in the structure of DNA from different species of rhododendrons. Thus, this type of PCR analysis is very helpful for certification of the rhododendrons, but, of course, the results of this work needs to be supported by other types of molecular-genetic studies.

Keywords: DNA, amplicon, primer, rhododendron, molecular genetic analysis, PCR

Род рододендрон (*Rhododendron* L.) семейства Вересковые (*Ericaceae*) насчитывает около тысячи видов вечнозеленых, полулистопадных и листопадных кустарников и деревьев. Кроме того, среди чистых видов встречается большое количество естественных гибридов, а селекционерами создаются гибриды и сорта, несущие признаки, характерные для различных видов. Это создает определенные трудности для определения видовой принадлежности и систематического положения представителей данного рода [5, 10]. В настоящее время в систематике для определения видов наряду с морфологическими и анатомическими признаками используются и данные биохимических и генетических исследований, хотя доля последних все еще несоизмеримо мала [10]. Неоспоримая ценность такого подхода обусловлена требованиями современной науки к разработке естественной классификации, отражающей не только формовое разнообразие, но и эволюционно-таксономические взаимоотношения видов внутри рода *Rhododendron*.

Генетическая паспортизация представляет собой метод получения генетически детерминированных характеристик с помощью морфологических или молекулярных маркеров. Описание морфологических характеристик селекционного материала – элемент классического генетического анализа и селекционного скрининга, его можно считать первым этапом генетической

паспортизации [4]. Второй этап связан с разработкой и использованием биохимических и молекулярно-генетических маркеров.

На сегодняшний день проведение генетической паспортизации считается актуальной задачей современной селекции. В мировой практике для паспортизации пород и индивидуальной паспортизации объектов лесного и сельского хозяйства используют преимущественно ДНК-маркеры. Это ядерные элементы, в основном микросателлиты, так называемые STR-маркеры или последовательности ДНК, ограниченные инвертированными повторами.

Молекулярно-генетический анализ имеет ряд существенных преимуществ перед морфофизиологическим. Применение данного метода является актуальным для:

1) оптимизации сохранения генофондов редких и исчезающих видов растений, с учетом показателей генетического разнообразия, установленных по результатам молекулярного маркирования множественных геномных участков, а также с обязательным учетом уровней внутри- и межпопуляционного разнообразия;

2) сохранения генофондов редких и исчезающих видов растений с возможностью проведения отбора в природных условиях популяций и их групп как с наиболее типичными, так и со специфичными характеристиками генофондов;

3) молекулярно-генетическая идентификация и паспортизация генофондов редких и исчезающих видов растений необходима для оптимизации сохранения генетического разнообразия на популяционном уровне, позволяющая на основании оценок полилокусного сочетания моно- и полиморфных участков ДНК составить молекулярно-генетическую формулу, штрих-код популяций и обобщить данные в виде генетического паспорта [4].

Среди молекулярных маркеров, имеющих множественную локализацию в геноме, наиболее распространёнными являются RAPD-маркеры (RAPD-ПЦР – случайно амплифицированная полиморфная ДНК). Методика ПЦР позволяет амплифицировать ДНК из любой части генома, в том числе фрагменты ДНК с неизвестной (анонимной) нуклеотидной последовательностью [11].

Цель исследования. В рамках комплексного подхода к решению проблемы систематизации представителей рода *Rhododendron* начата работа, целью которой стало молекулярно-генетическое маркирование с использованием RAPD-метода коллекции рододендронов Ботанического сада им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета.

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования служили свежие листья 8 видов растений рода рододендрон: *Rh. smirnovii, Rh. catawbiense, Rh. brachycarpum, Rh. quinquefolium, Rh. albrechtii, Rh. japonicum, Rh. dauricum, Rh. thomsonii.*

Начальным этапом данного исследования явилось получение препаратов нуклеиновых кислот (ДНК). Как оказалось, при выделении ДНК из разных объектов необходимо учитывать их физиологические и биохимические особенности и, в соответствии с полученными данными, адаптировать уже известные методы выделения ДНК путем внесения в них необходимых модификаций.

Выделение ДНК проводили по модифицированной методике с использованием в качестве детергента ЦТАБ (цетилтриметиламмоний бромид). Качество и количество полученных препаратов определяли спектрофотометрически на спектрофотометре СФ-102, а также при помощи электрофореза в 2% агарозном геле с добавлением бромистого этидия.

Реакцию ПЦР проводили с использованием RAPD-праймеров (декануклеотидные праймеры к инвертированным повторам) в амплификаторе «Терцик» в течение 2 часов. Для ПЦР была использована реакционная смесь следующего состава: 2,5 мкл 10*ПЦР буфера (100 мМ Трис-HCl; pH 8,8; 500 мМ KCl), 25 мМ $MgCl_2$, смесь 10 мМ нуклеотидтрифосфатов, 10 мМ праймера, 1 ед. Taq ДНК-полимераза и 1 мкл ДНК (20 нг/мкл).

Для ПЦР применялись следующие RAPD-праймеры: Oligo 1, Oligo 2, Oligo 4, Oligo 6, Oligo 12 и Oligo 29. Температуру отжига для каждого из праймеров подбирали в компьютерной программе OLIGO 6. На следующем этапе выполняли электрофоретическое разделение продуктов амплификации в 2% агарозном геле с 1x TAE-буфером при 120 Вт в течение 2 ч, длина пробега 5–7 см. Готовый гель окрашивали бромистым этидием, фрагменты ДНК анализировали в трансиллюминаторе Vilber Lourmat. Размеры полученных ампликонов определяли с использованием программного обеспечения Gel Imager-2.

Результаты исследования и их обсуждение

Для выявления индивидуальных различий в структуре ДНК и составления их генетических паспортов для каждого вида рододендронов была проведена ПЦР с каждым из 6 RAPD-праймеров, которые фланкировали участки ДНК, ограниченные инвертированными повторами. На основании полученных спектров ампликонов были составлены таблицы, отражающие наличие или отсутствие соответствующего ампликона, характерного для каждого из праймеров (наличие ампликона обозначалось цифрой 1, отсутствие цифрой 0) (табл. 1–6).

Таблица 1

Наличие или отсутствие соответствующего ампликона, характерного для праймера Oligo 2, у восьми видов рододендронов

Ампликон п.н. / Вид	1930	1630	1470	1050	880	770	690	625	590	500	430	390	370	280	220	200
Rh. smirnovii	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0
Rh. catawbiense	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0
Rh. brachycarpum	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
Rh. quinquefolium	0	0	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0
Rh. japonicum	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1
Rh. albrechtii	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0
Rh. dauricum	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	1
Rh. thomsonii	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1

Таблица 2

Наличие или отсутствие соответствующего ампликона, характерного для Oligo 12 праймера, у шести видов рододендронов

Ампликон п.н. / Вид	2800	1400	1230	1070	925	800	730	690	600	500	470	360	330	300	280	240	210
Rh. smirnovii	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0
Rh. atawbiense	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1
Rh. brachycarpumный	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	1
Rh. quinquefolium	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Rh. japonicum	1	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1
Rh. albrechtii	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	0
Rh. dauricum	0	0	1	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	0
Rh. thomsonii	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0

Таблица 3

Наличие или отсутствие соответствующего ампликона, характерного для Oligo 6 праймера, у восьми видов рододендронов

Ампликон п.н. / Вид	1620	1190	1060	920	800	700	600	550	510	450	410	380	320	280	240	220	130	170
Rh. smirnovii	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1
Rh. catawbiense	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	0	0	1
Rh. brachycarpumй	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1
Rh. quinquefolium	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
Rh. japonicum	0	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	0	0	0
Rh. albrechtii	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0
Rh. dauricum	1	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0
Rh. thomsonii	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0

Таблица 4

Наличие или отсутствие соответствующего ампликона, характерного для Oligo 4 праймера, у восьми видов рододендронов

Вид \ Ампликон п.н.	2000	1640	1400	1160	1000	900	800	700	650	600	535	480	420	390	340	300	250	200
Rh. smirnovii	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1	0	1
Rh. catawbiense	0	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	0	0
Rh brachycarpum	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0
Rh quinquefolium	0	1	1	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
Rh. japonicum	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
Rh. albrechtii	0	0	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0
Rh. dauricum	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	0	1	0
Rh. thomsonii	1	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0

Таблица 5

Наличие или отсутствие соответствующего ампликона, характерного для Oligo 1 праймера, у восьми видов рододендронов

Вид \ Ампликон п.н.	2000	1800	1580	1370	1200	1000	930	870	690	610	560	500	445	380	300	260	240	210
Rh. smirnovii	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0
Rh. catawbiense	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	1
Rh. brachycarpumный	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
Rh. quinquefolium	1	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	0
Rh. japonicum	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
Rh. albrechtii	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0
Rh. dauricum	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	0	1	1	0	1	0	0
Rh. thomsonii	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	0	0

Таблица 6

Наличие или отсутствие соответствующего ампликона, характерного для Oligo 29 праймера, у восьми видов рододендронов.

Вид \ Ампликон п.н.	2400	1850	1640	1330	1150	970	830	650	600	560	530	500	470	415	380	300	240
Rh. smirnovii	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0
Rh. catawbiense	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	1
Rh. brachycarpumный	1	0	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1
Rh. quinquefolium	0	0	1	0	1	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0
Rh. japonicum	0	0	1	0	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0
Rh. albrechtii	0	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0
Rh. dauricum	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
Rh. thomsonii	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0

Из анализа представленных в таблицах данных можно сделать заключение о том, что использованные в работе RAPD-праймеры (Oligo 1, Oligo 2, Oligo 4, Oligo 6, Oligo 12, Oligo 29) позволили получить для каждого образца спектр ампликонов и показали высокую информативность и стабильность. Число амплифицированных фрагментов ДНК варьировалось в зависимости от праймера от 16 (праймер Oligo 2) до 18 (праймер Oligo 4, Oligo 6, Oligo 1), а их размеры – от 170 до 2800 п.н. В среднем при RAPD-анализе у рододендрона один праймер инициировал синтез 18,16 фрагмента ДНК. Общее количество локусов амплификации для каждого праймера по 8 видам составило 104.

Последующий анализ полученных данных позволяет сделать вывод о том, что генотипы 8 изученных видов рододендронов, несмотря на сходство между собой, имеют ряд индивидуальных отличий. Идентичность генотипов составила от 23,53 % (*Rh. smirnovii* и *Rh. dauricum*) до 88,9 % (*Rh. dauricum* и *Rh. thomsonii*).

Полученные усреднённые данные по сходству последовательностей ДНК (в %) для каждого вида приведены в табл. 7. Из анализа указанной таблицы следует, что наибольшее сходство в структуре ДНК имеют виды *Rh. thomsonii* и *Rh. dauricum*, последовательность их ДНК схожа на 74,31 %. Наименьшее сходство в последовательности ДНК имеют виды *Rh. smirnovii* и *Rh. dauricum*, *Rh. brachycarpum* и *Rh. dauricum*. Их ДНК схожа на 48,62 %. Внутривидовые различия структуры ДНК у 8 видов рододендрона составили в среднем 6,3 %, что говорит о том, что каждая из изученных выборок рододендронов действительно состояла из образцов одного вида.

Таблица 7

Сходство последовательностей ДНК (среднее по 6 праймерам) у изученных видов рододендронов

	Rh. smirnovii	Rh. catawbiense	Rh. brachycarpum	Rh. quinquefolium	Rh. japonicum	Rh. albrechtii	Rh. dauricum	Rh. thomsonii
Rh. smirnovii	100							
Rh. catawbiense	63,30	100						
Rh. brachycarpum	54,18	67,89	100					
Rh. quinquefolium	56,88	53,21	54,13	100				
Rh. japonicum	56,88	57,8	49,54	62,39	100			
Rh. albrechtii	56,88	60,55	57,8	59,63	60,55	100		
Rh. dauricum	48,62	49,54	48,62	59,63	51,38	57,8	100	
Rh. thomsonii	57,8	52,29	52,29	61,48	60,55	54,13	74,31	100

Таким образом, применение шести RAPD-праймеров позволило нам обнаружить различия в структуре ДНК рододендронов разных видов, что дает возможность для составления индивидуальных генетических паспортов с целью их систематизации.

Заключение

В результате проведенного исследования с использованием в полимеразной цепной реакции RAPD-праймеров Oligo 1, Oligo 2, Oligo 4, Oligo 6, Oligo 12, Oligo 29 в спектрах ампликонов у 8 видов рододендронов выявили индивидуальные различия, связанные с присутствием/отсутствием отдельных фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами терминальных участков ретротранспозонов. Эти различия свидетельствуют о сложности процессов возникновения генетической изменчивости.

Таким образом, на большом фактическом материале убедительно доказано, что для оценки генетического разнообразия и паспортизации видов рододендронов подходящим является использование ДНК-анализа на основе ПЦР с использованием RAPD-праймеров. Однако для более полной молекулярно-генетической характеристики необходимо применение комплексного подхода, включающего и другие методы на основе ПЦР, позволяющие получить достоверную и объективную информацию для целей идентификации и сохранения генетического материала коллекции рододендронов ботанического сада им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского государственного университета.

Данная работа выполнена в рамках и при поддержке государственного контракта на выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ федеральной целевой программы Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007–2013 годы № 16.518.11.7099 Оценка состояния растительных ресурсов при интродукции в Центрально-Черноземном регионе и разработка мероприятий по их сохранению на базе ботанического сада им. проф. Б.М. Козо-Полянского Воронежского госуниверситета

Список литературы

1. Альбертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. – М.: Мир, 1994. – Т. 1. – С. 520.

2. Баранов О.Ю., Каган Д.И. Микросателлитный анализ берёзы повислой // Молекулярная и прикладная генетика. – 2005. – Т. 1. – С. 157.

3. Боронникова С.В., Кокаева З.Г., Гостимский С.А., Дрибноходова О.П., Тихомирова Н.Н. // Генетика. – 2007. – Т.43, №5. – С. 653–659.

4. Ковалевич О.А., Каган Д.И. Изменчивость митохондриальной ДНК дуба черешчатого на территории Белоруссии // Наука о лесе XXI века: материалы международной научно-практической конференции. – Гомель, 2010. – С. 192–195.

5. Кондратович Р.Я. Рододендроны. – Рига: Авотс, 1981. – 231 с.

6. Стегний В.Н., Чудинова Ю.В., Салина Е.А. RAPD-анализ разнопродуктивных сортов и гибридов льна культурного // Генетика. – 2000. – Т. 36, № 10. – С. 1370–1373.

7. Созинова Л.Ф., Цветков И.Л., Комаров А.Б. Разработка протокола генетической дифференциации сортов пшеницы с использованием нового класса молекулярно-генетических маркеров // Биотехнология. Теория и практика. – 2007. – № 3. – С. 24–31.

8. Цветков И.А., Иванов А.Н., Глазко В.И. Генетическая дифференциация сортов риса по IRAP-маркерам // Известия ТСХА. – 2006. – № 4. – С. 155–159.

9. Chalmer K.J., Waugh R., Sprent J.I., Simons A.J., Powell W. Detection of genetic variation between and within populations of Gliricidia sepium and G. maculata using RAPD markers // Heredity. – 1992. – Vol. 69. – P. 465–172.

10. Lanying Zh., Yongqing W., Li Zh. Genetic diversity and relationship of *Rhododendron* species based on RAPD analysis // American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci. – 2008. – Vol. 3 (4). – P. 626–631.

11. Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski, J.A. and Tingey. S.V. // Nucl. Acids Res. – 1990. – Vol. 18. – P. 6531–6535.

References

1. Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K., Watson J. Moscow, Mir, 1994. Vol. 1, pp. 520.

2. Baranov O.Yu., Kagan D.I. *Mikrosatelitny analiz berezy povisloy* [Microsatellite analysis of weeping birch]. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika – Molecular and Applied Genetics*. 2005, Vol. 1, pp. 157.

3. Boronnikova S.V., Kokaeva Z.G., Gostimsky S.A., Dribnohodova O.P., Tikhomirova N.N. *Russian Journal of Genetics*, 2007, Vol. 43, no. 5, pp. 530–535.

4. Kovalevich O.A., Kagan D.I. *Izmenchivost mitokhondrialnoy DNK duba chereshcha-togo na territorii Belorussii* [Variability of mitochondrial DNA of English oak on the territory of Belarus]. *Nauka o lese XXI veka : materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. (Forest Science of the XXI century: proceedings of an international scientific conference). Gomel, 2010, pp. 192–195.

5. Kondratovich R.Ya. *Rododendrony* [Rhododendrons]. Riga, Avots, 1981. 231 p.

6. Stegnii V.N., Chudinova Yu.V., Salina E.A. RAPD analysis of flax (Linum usitatissimum L.) varieties and hybrids of various productivity. *Russian Journal of Genetics*, 2000, Vol. 36, no.10, pp. 1149–1152.

7. Sozinova L.F., Tsvetkov I.L., Komarov A.B. *Razrabotka protokola geneticheskoy differentsiatsii sortov pshenitsy s ispolzovaniem novogo klassa molekulyarno-geneticheskikh markerov* [Development of a protocol of genetic differentiation of wheat varieties using a new class of molecular genetic markers]. *Biotehnologija. Teorija i praktika – Biotechnology. Theory and practice*, 2007, no. 3, pp. 24–31.

8. Tsvetkov I.A., Ivanov A.N., Glazko V.I. *Geneticheskaya differentsiatsiya sortov risa po IRAP-markeram* [Genetic differentiation of rice varieties for IRAP-markers]. *Izvestija TSHA – Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy*, 2006, no. 4, pp. 155–159.

9. Chalmer K.J., Waugh R., Sprent J.I., Simons A. J., Powell W. *Heredity*, 1992, Vol. 69. pp. 465–172.

10. Lanying Zh., Yongqing W., Li Zh. Genetic diversity and relationship of Rhododendron species based on RAPD analysis. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 2008, Vol. 3 (4), pp. 626–631.

11. Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., and Tingey S.V. *Nucl. Acids Res.*, 1990, Vol. 18, pp. 6531–6535.

Рецензенты:

Дурнова Н.А., д.б.н., доцент, зав. кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Саратов;

Полуконова Н.В., д.б.н., профессор кафедры общей биологии, фармакогнозии и ботаники ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Саратов.

Работа поступила в редакцию 06.04.2012.