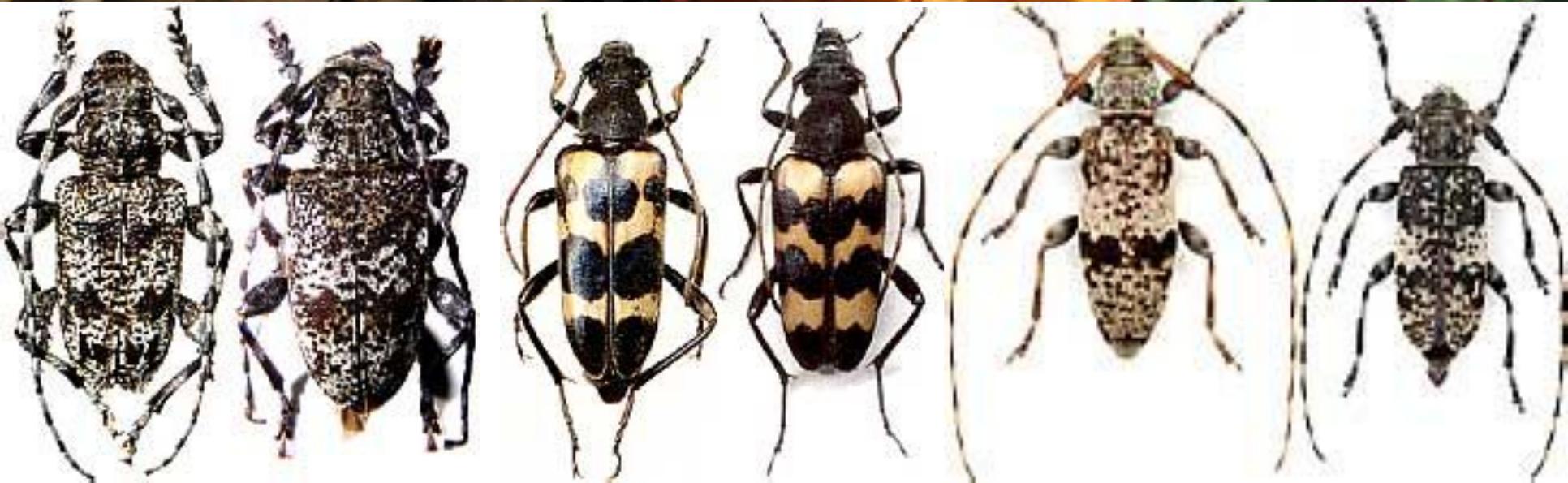


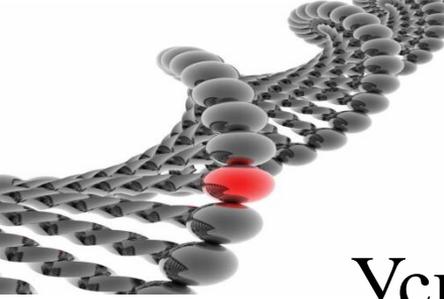


"Ключевые методы  
молекулярной  
биологии.  
Фрагментный  
анализ"

Докладчик: Шадрин Д.М.  
e-mail: [shdima@ib.komisc.ru](mailto:shdima@ib.komisc.ru)

# Виды-двойники

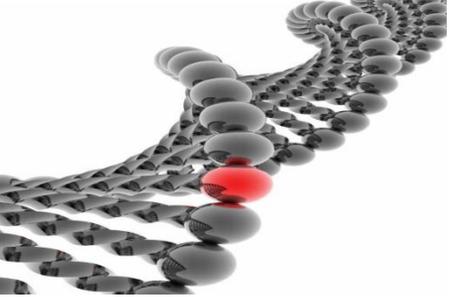




# Актуальность:

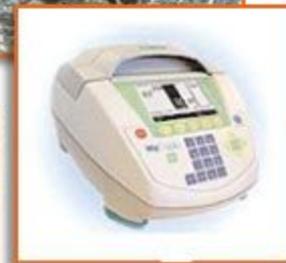
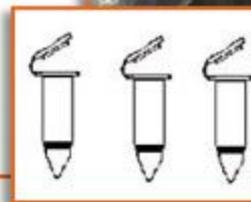
Успехи в развитии генетических исследований обусловлены наличием информативных генетических маркеров

Развитие молекулярных методов исследований позволило создать новые тест-системы, позволившие анализировать генетический полиморфизм на уровне продуктов генов (белковый или биохимический полиморфизм) и на уровне генетического материала (полиморфизм ДНК).



# Задачи, решаемые с помощью методов ФА

1. Для характеристики генетической гетерогенности (наличие в популяции разных аллелей генов)
2. Для изучения уровня и структуры генетического разнообразия популяций (средняя гетерозиготность, число аллелей на локус, генетическое расстояние)
3. Для идентификации сортов растений и пород животных
4. Для оценки генеалогических связей
5. Для поиска молекулярно-генетических маркеров, ассоциированных с желательными признаками

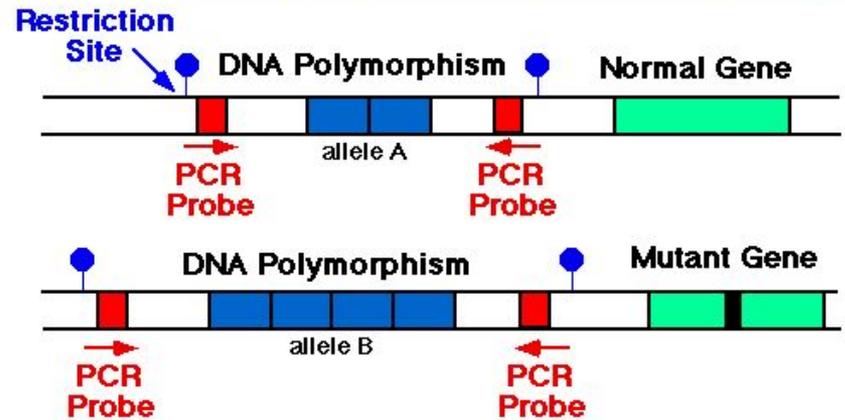
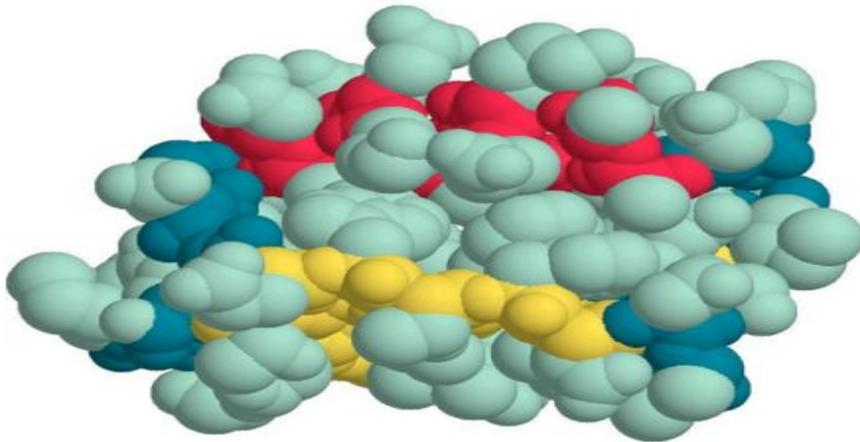


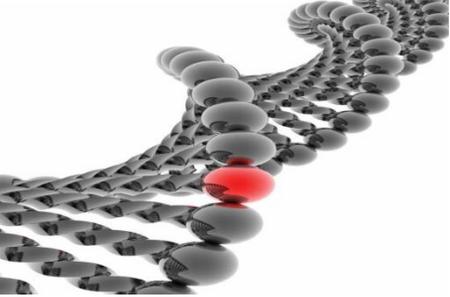
# Классификация

## Молекулярно-генетические маркеры

Биохимические  
маркеры

ДНК  
маркеры



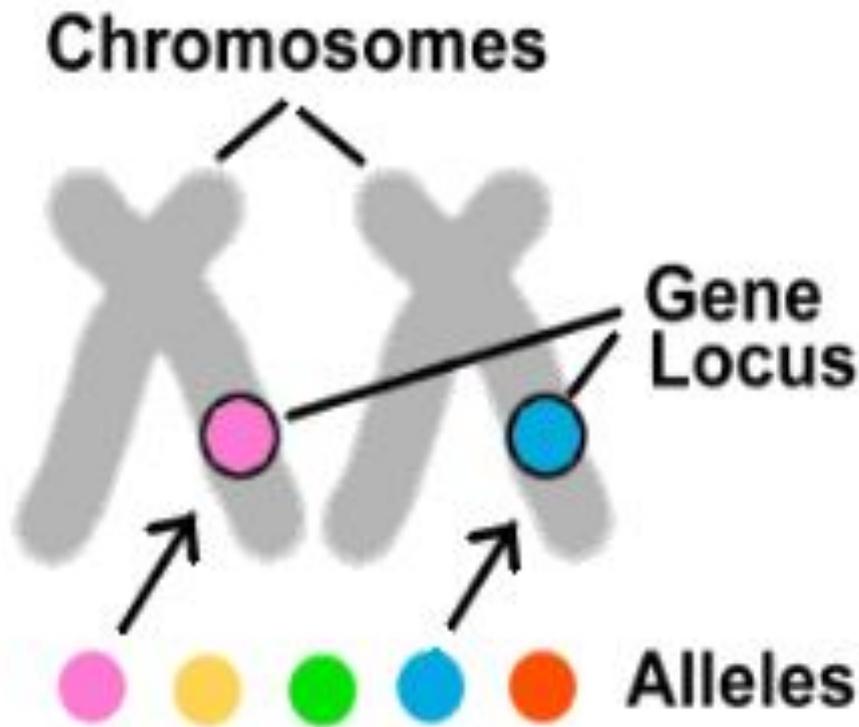


# Термины классической генетики

- Аллели маркерных локусов – различные формы одного и того же маркера, расположенные в одинаковых участках (локусах) одних и тех же гомологичных хромосом.

- Кодоминантный тип наследования маркера – когда метод анализа маркера позволяет выявить оба аллеля.

- Доминантный тип наследования маркера – когда метод анализа маркера позволяет выявить только один аллель.



# Классификация

## Молекулярно-генетические маркеры

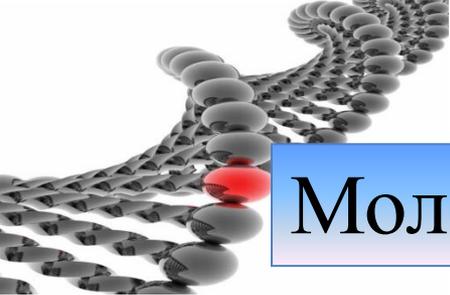
Биохимические  
маркеры

ДНК  
маркеры

Основанные  
на блот-  
гибридации

Основанные  
на  
ПЦР

Основанные  
на  
ДНК-чипах

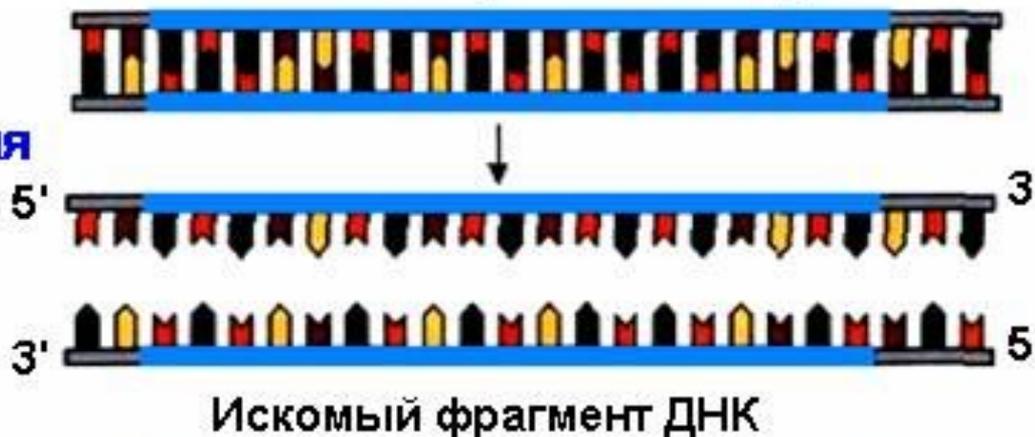




# ПЦР – полимеразная цепная реакция

## 1-й цикл ПЦР

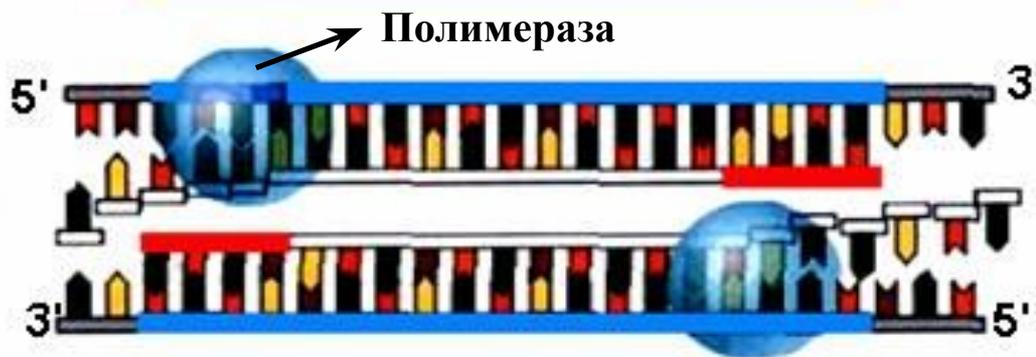
1 этап  
Денатурация  
93-95 °С

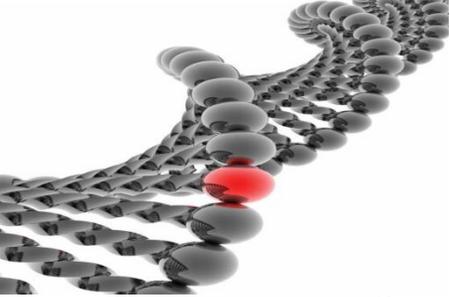


2 этап  
Гибридизация  
праймеров  
50-65 °С

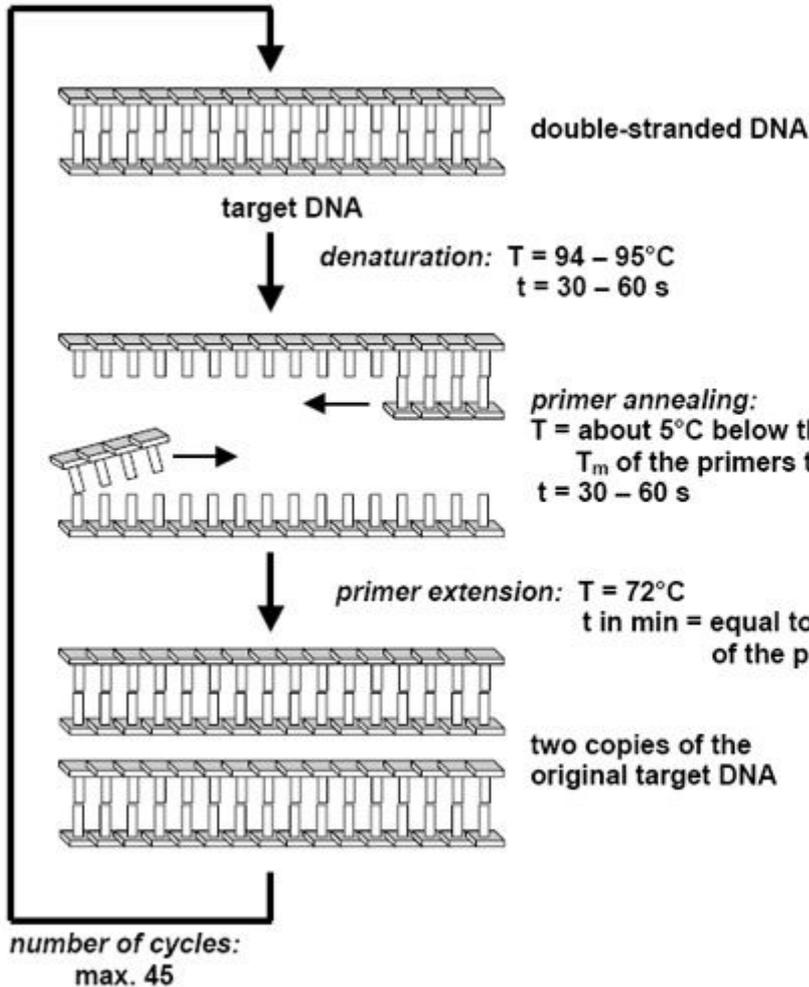


3 этап  
Синтез  
цепи ДНК  
72 °С





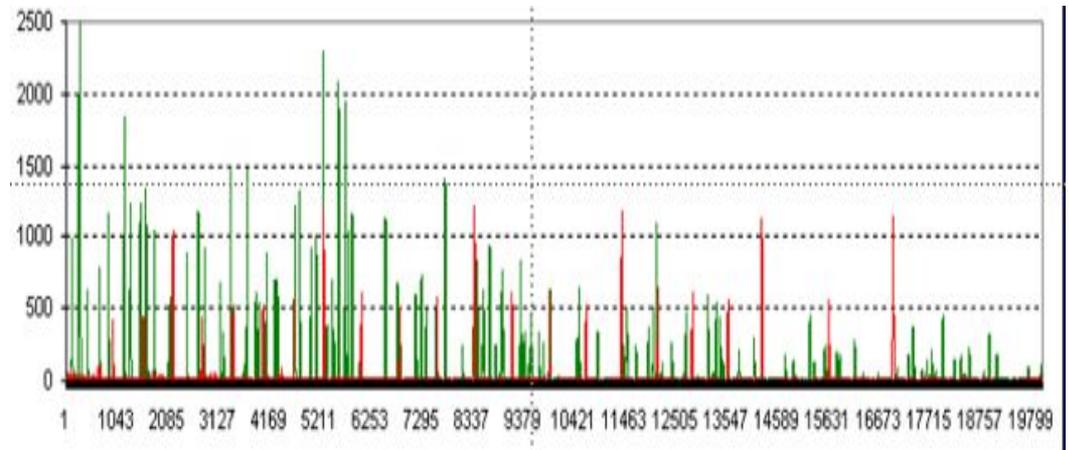
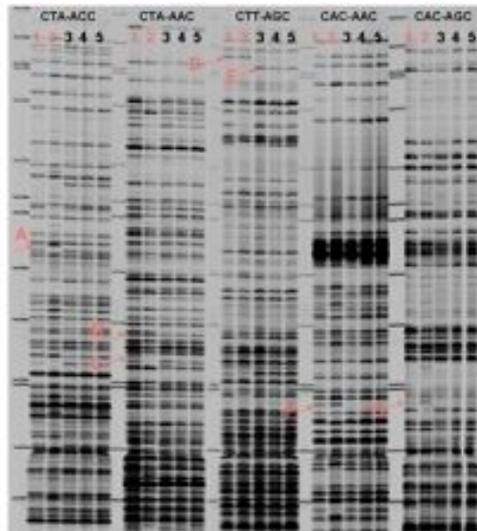
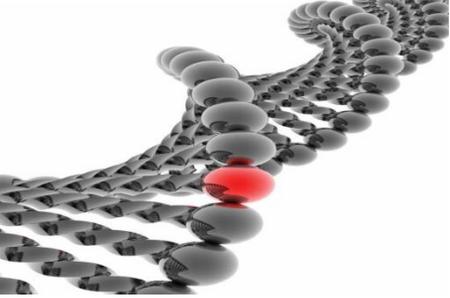
# ПЦР – полимеразная цепная реакция

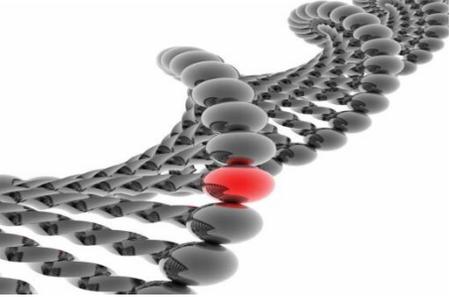


cycle number	target copies
1	2
2	4
3	8
4	16
5	32
6	64
20	1,048,576
30	1,073,741,824



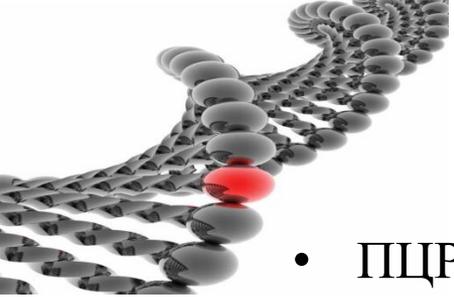
# Детекция полиморфизма продуктов ПЦР





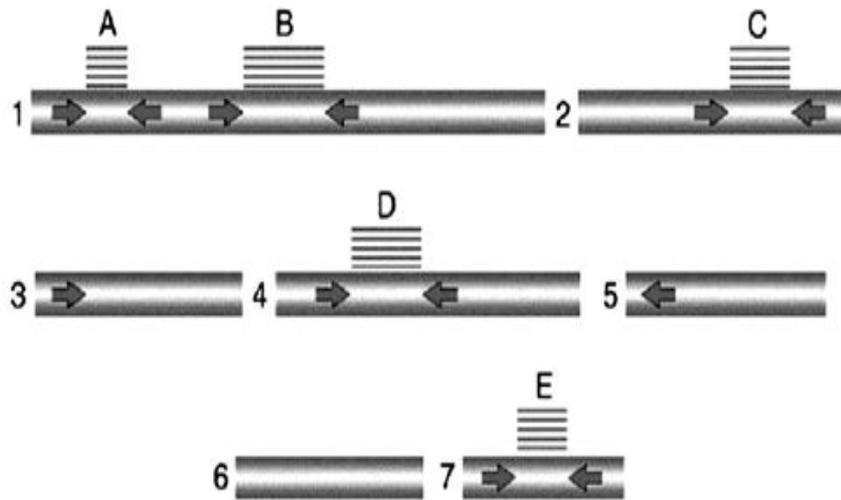
# Молекулярные маркеры, основанные на ПЦР

- RAPD – случайно амплифицированные полиморфные ДНК (Williams et al, 1990).
- ISSR – межмикросателлитные последовательности (Zietkiewicz et al, 1994).
- AFLP – полиморфизм длины амплифицированных фрагментов (Vos et al., 1995).
- SSAP – полиморфизм специфично амплифицированных последовательностей (Waugh et al., 1997).
- IRAP – полиморфизм амплифицированных последовательностей между ретротранспозонами (Kalendar, Shulman, 2006).

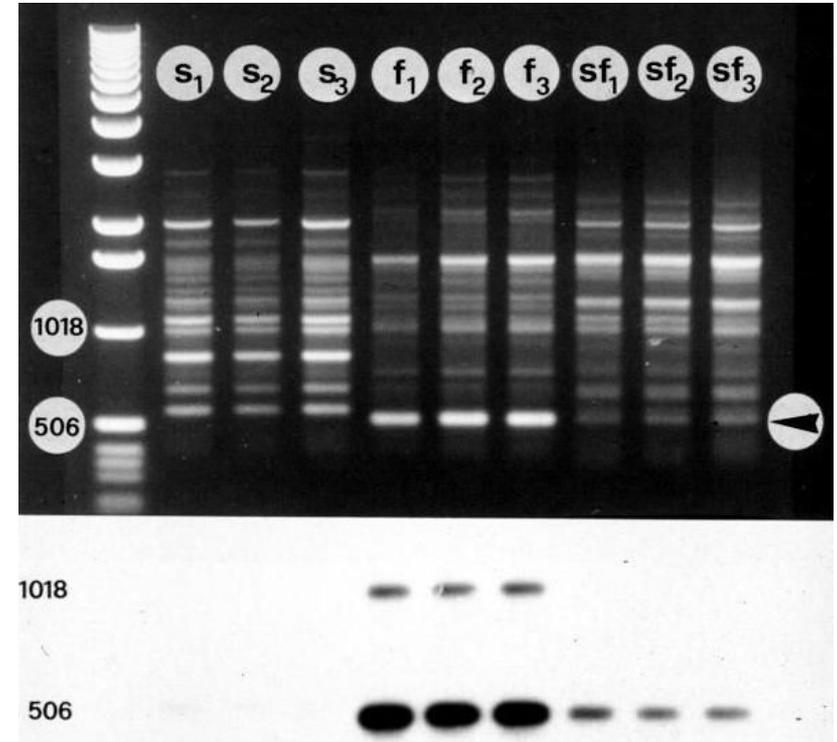
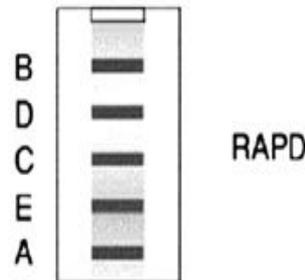


# RAPD – Random Amplified Polymorphic DNA

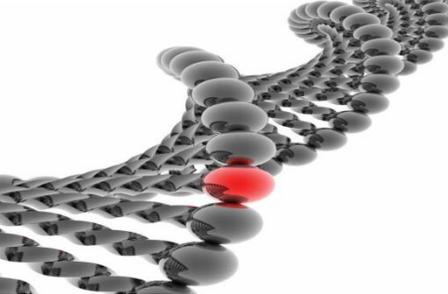
- ПЦР с использованием одного декануклеотидного праймера



➔ ПРАЙМЕРЫ  
 АМПЛИФИЦИРОВАННЫЕ ФРАГМЕНТЫ  
 1-7 ХРОМОСОМЫ



RAPD analysis of somatic hybrid plants (sf1-sf3)  
*M.sativa* + *M.falcata* with the random primer RP7.  
 (S. Arcioni et al.)



ELSEVIER

Animal Reproduction Science 85 (2005) 183–191

www.elsevier.com/locate/anireprosci

ANIMAL  
REPRODUCTION  
SCIENCE

## Use of RAPD markers for identifying Nelore bulls with early reproductive maturation onset

B.C.A. Alves<sup>a</sup>, M.M. Unanian<sup>b</sup>, E. Silva<sup>b</sup>, M. Oliveira<sup>c</sup>,  
C.A. Moreira-Filho<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas,  
Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

<sup>b</sup> Centro de Pesquisa em Pecuária do Sudeste, CPPSE-Embrapa, São Carlos, SP, Brazil

<sup>c</sup> Lagoa da Serra, Sertãozinho, SP, Brazil

Received 22 July 2003; received in revised form 16 February 2004; accepted 4 March 2004

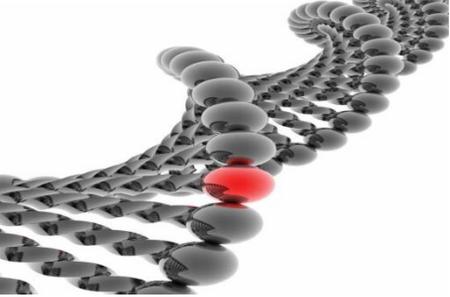


### Abstract

Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers were used for identifying animals with early (precocious) or late (non-precocious) reproductive maturation onset. Animals ( $n = 34$ ) were phenotyped according to spermatozoa appearance in ejaculates (group A, 20 animals) or to the expected progeny difference (EPD) values for scrotal circumference (group B, 14 animals). The RAPD markers were initially detected by amplifying two pooled samples of equimolar amounts of DNA from the eight precocious 12 and non-precocious animals of group A. Only 38 out of 320 random primers used for screening group A pooled samples detected polymorphisms. These polymorphic primers generated 443 distinguishable and reproducible bands, from which 174 were polymorphic and 269, monomorphic. These polymorphic primers were then used in RAPD reactions to amplify individual DNA samples from animals belonging to both groups, A and B. The dendrograms generated from RAPD patterns allowed phenotypic class differentiation in both cases. Therefore, RAPD markers can be used as a tool for identifying genotypes favoring early sexual maturation in Nelore breeding programs.

© 2004 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Sexual precocity; Nelore cattle; RAPD markers

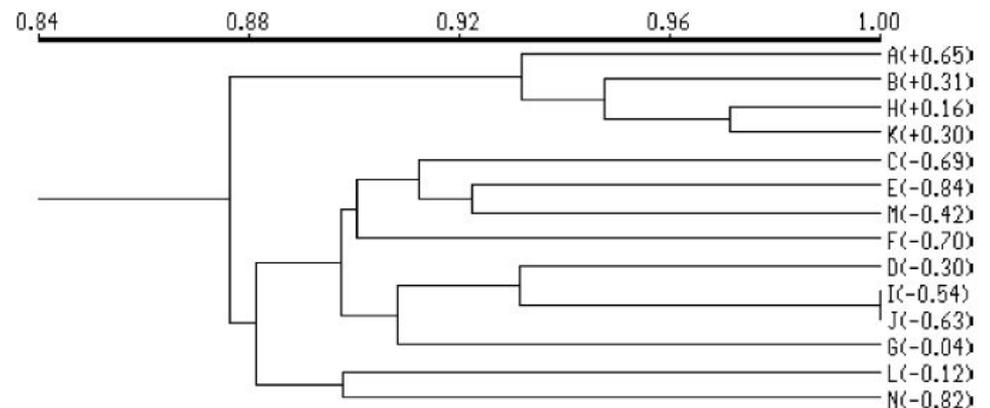
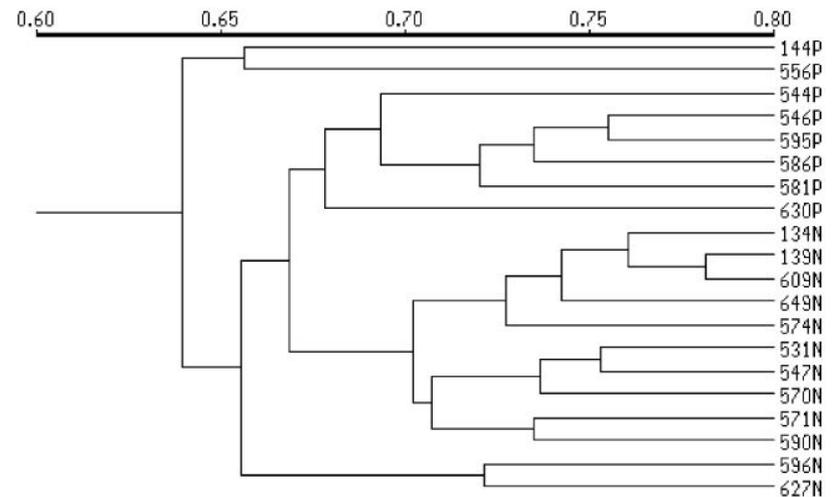


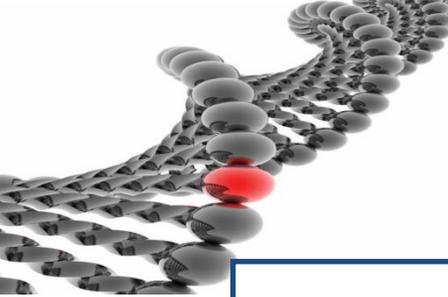
# Use of RAPD markers for identifying Nelore bulls with early reproductive maturation onset

B.C.A. Alves<sup>a</sup>, M.M. Unanian<sup>b</sup>, E. Silva<sup>b</sup>, M. Oliveira<sup>c</sup>,  
C.A. Moreira-Filho<sup>a,\*</sup>

Table 1  
Random primers that detected polymorphisms in DNA pool analysis

Primer	Sequence (5' → 3')	No. of amplified bands	No. of polymorphic bands
OPA-08	GTGACGTAGG	13	06
OPA-11	CAATCGCCGT	20	10
OPA-12	TCGGCGATAG	11	06
OPA-19	CAAACGTCGG	16	08
OPB-19	ACCCCGAAG	11	05
OPC-07	GTCCCGACGA	08	04
OPC-17	TTCGCCCAG	17	09
OPD-01	ACCGCGAAGG	10	06
OPD-15	CATCCGTGCT	11	04
OPD-16	AGGGCGTAAG	07	03
OPF-11	TTGGTACCCC	08	01
OPG-07	GAACCTGCGG	12	07
OPH-06	ACGCATCGCA	09	03
OPH-07	CTGCATCGTG	16	10
OPH-11	CTTCCGCAGT	09	03
OPI-04	CCGCCTAGTC	12	03
OPI-14	TGACGGCGGT	10	04
OPJ-01	CCCGGCATAA	12	04
OPJ-03	TCTCCGTTG	07	02
OPK-06	CACCTTTCCC	19	04
OPK-09	CCCTACCGAC	12	03
OPK-14	CCCGCTACAC	11	02
OPK-18	CCTAGTCGAG	08	03
OPM-02	ACAACGCCTC	15	06
OPM-04	GGCGGTTGTC	12	04
OPM-14	AGGGTCGTTT	09	03
OPM-17	TCAGTCCGGG	16	09
OPN-09	TGCCGGCTTG	13	05
OPN-14	TCGTGCGGGT	18	06
OPO-01	GGCACGTAAG	12	06
OPO-04	AAGTCCGCTC	10	02
OPO-16	TCGGCGGTTT	10	01
OPO-18	CTCGTATACC	12	04
OPP-05	CCCCGGTAAC	06	02
OPP-10	TCCCGCCTAC	08	03
OPP-11	AACGCGTCGG	08	04
OPP-12	AAGGGCGAGT	12	06
OPP-17	TGACCCGCCT	13	03
Total		443	174





## ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ И ГЕНОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ *LATHYRUS SATIVUS* L. ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

М.О. Бурляева, М.А.Вишнякова

ГНУ ВИР Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: m.burlyayeva@vir.nwpi.ru

Изучены образцы введенного в культуру вида *Lathyrus sativus* L. из коллекции ВИР по комплексу морфологических и фенологических признаков и посредством RAPD-маркирования. По результатам канонического и дискриминантного анализов в качестве значимых морфологических признаков (из 30 изученных) для классификации внутривидового разнообразия выделены тип куста, окраска семенной кожуры, диаметр и ширина крыльев стебля, толщина боба и высота семени. Прямая связь обнаружена их взаимосвязь с происхождением образца. Группирование образцов на основе кластерного анализа отразило наличие двух подвидов и нескольких экологических типов почти в соответствии с имеющейся внутривидовой классификацией. В целом данные молекулярного анализа отразили эколого-географическую дифференциацию изученных образцов и их филогению. По степени генетической оригинальности – частоте встречаемости аллелей – выявлены образцы с уникальными аллелями, которые могут оказаться полезными для селекции.

**Ключевые слова:** *Lathyrus sativus*, чина посевная, фенотипическое и генетическое разнообразие, RAPD-анализ, коэффициент генетической оригинальности.

### Введение

*Lathyrus sativus* L. (чина посевная) – однолетняя бобовая культура, имеющая обширный ареал (рис. 1). Основные районы ее возделывания – страны с засушливым и полузасушливым климатом. В диком или одичавшем виде встречается крайне редко: в степях около Каспийского моря, в окрестностях г. Ленкорань, в северных районах Индии и как сорное растение – среди злаковых и бобовых культур в западном Средиземноморье и в горных районах Юго-Западной

Существует несколько внутривидовых классификаций чины посевной, из наиболее информативной мы считаем классификацию, созданную в ВИР монографом Ф.Л. Залкинд (1937, 1953). В ее основе – эколого-географическая дифференциация вида, выявляющаяся по комплексу морфологических и хозяйственно-биологических признаков. Географическая обособленность ареалов растений с темноокрашенными и светлоокрашенными семенами и цветками дала основание для выделения двух подвидов (климатиков):



Рис. 1. Ареал *L. sativus* (по: Ф.Л. Залкинд, 1937).

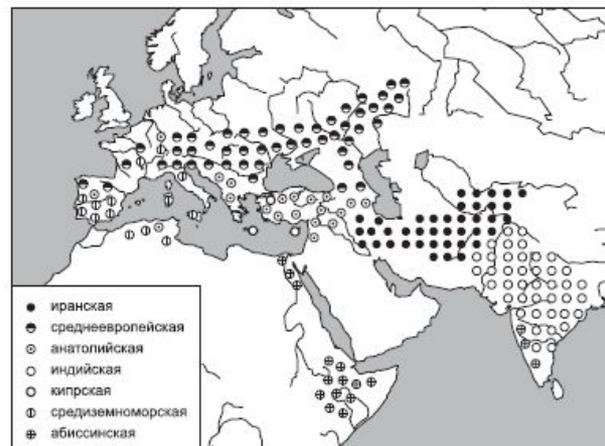
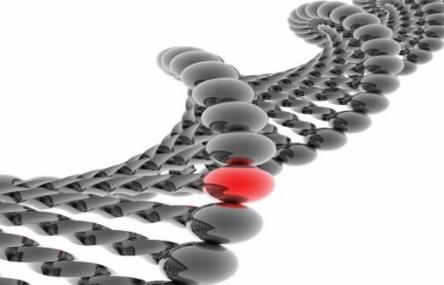


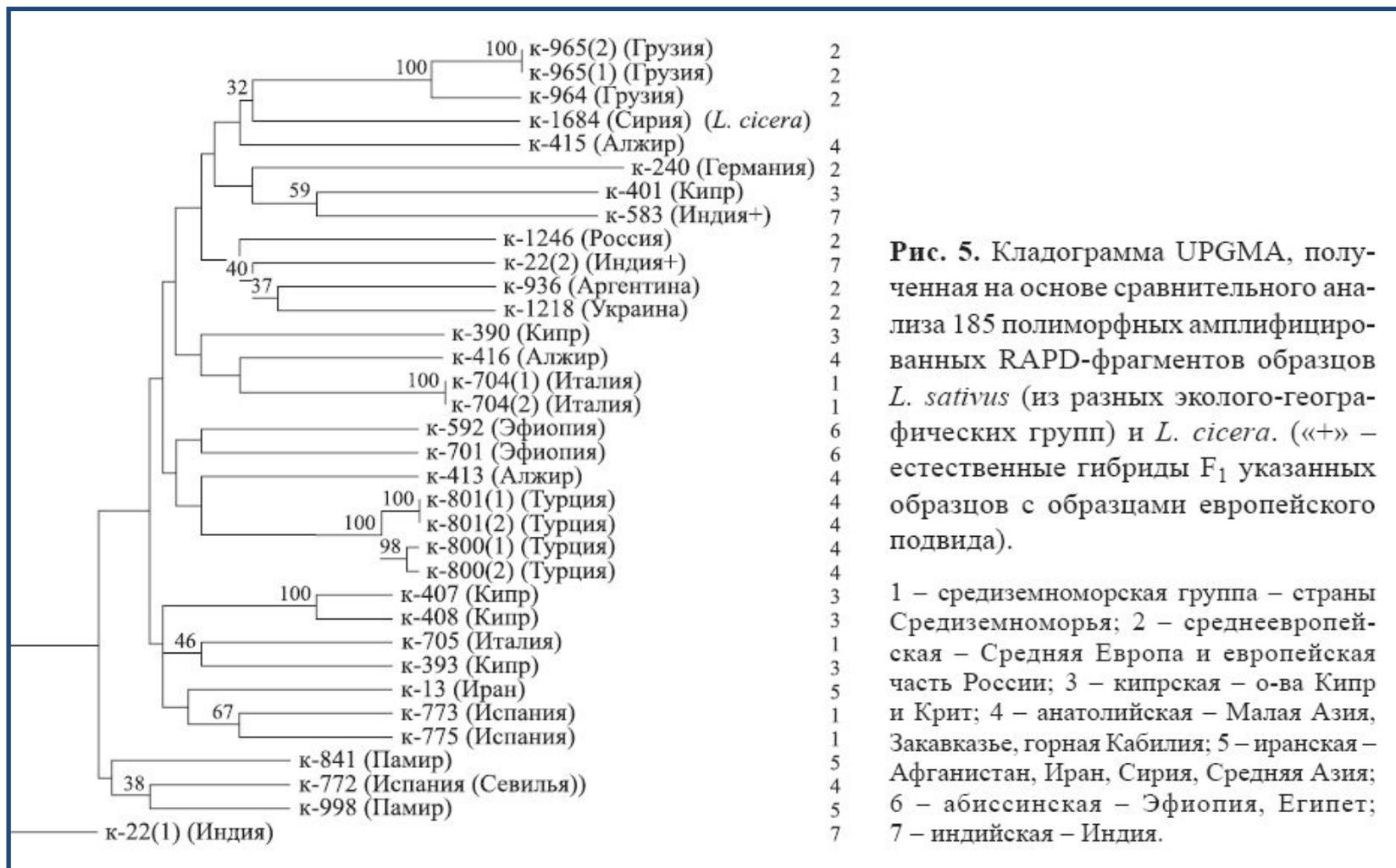
Рис. 2. Географическое распространение групп разновидностей *L. sativus* (по: Залкинд Ф.Л., неопубл.).

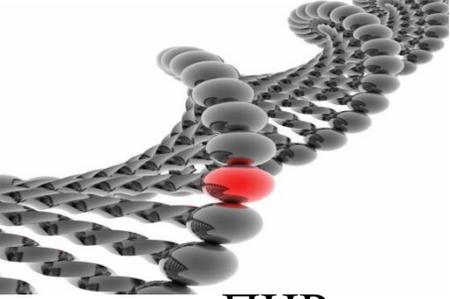


# ФЕНОТИПИЧЕСКОЕ И ГЕНОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ *LATHYRUS SATIVUS* L. ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

М.О. Бурляева, М.А.Вишнякова

ГНУ ВИР Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: m.burlyayeva@vir.nw.ru





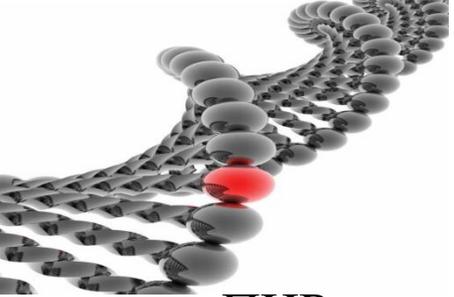
# ISSR – Inter Simple Sequence Repeat

- ПЦР с использованием одного или нескольких праймеров длиной 15-24 н.

**Микросателлитная ДНК** – ДНК из коротких тандемных повторов длиной от 1 до 6 пар оснований. Используются как молекулярные маркеры в определении родства, принадлежности к конкретной популяции, для исследования гибридизации. Микросателлиты характеризуются высокой скоростью изменения последовательностей, обусловленной «проскальзыванием» при репликации ДНК и точечными мутациями.

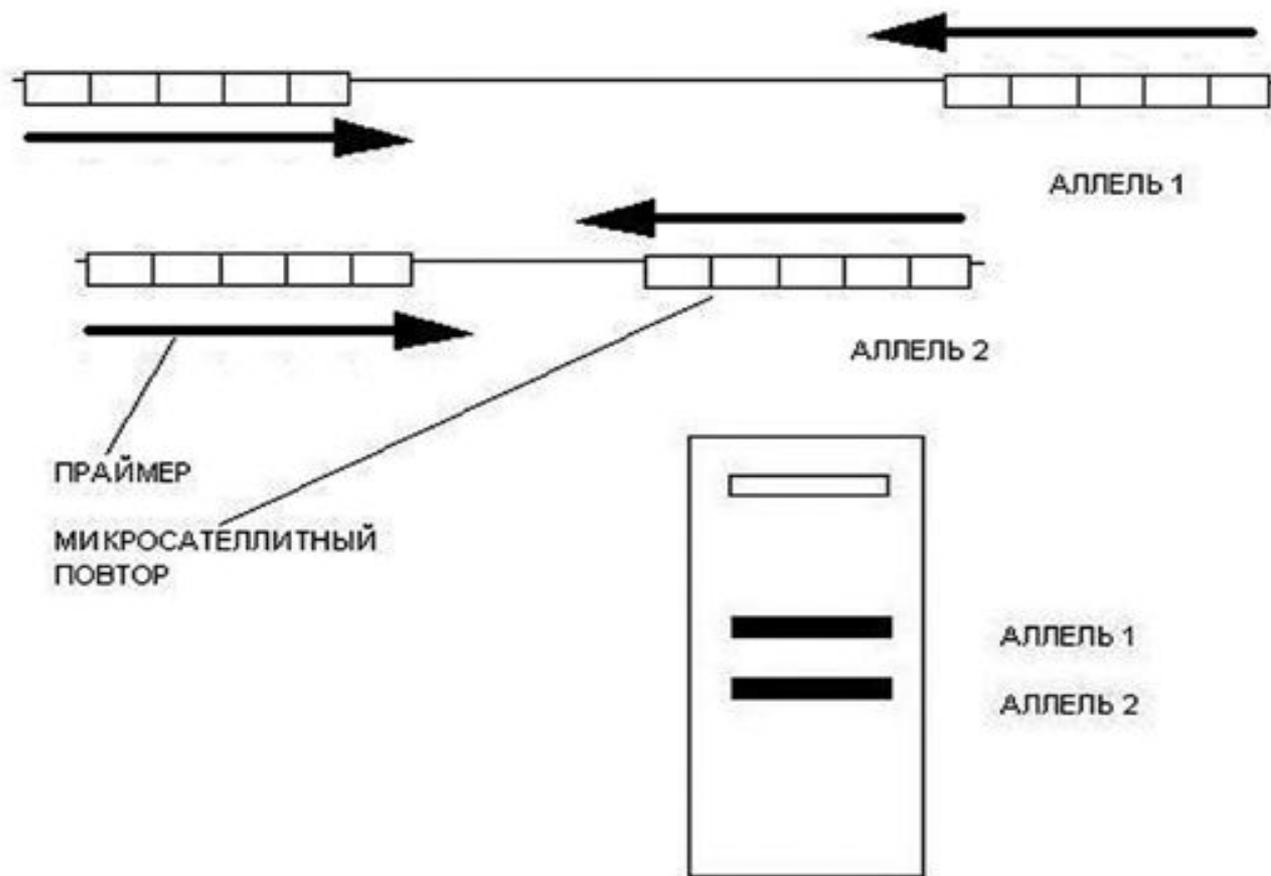
Праймер:

5' – CA CA CA CA CA CA CA CA **G**



# ISSR – Inter Simple Sequence Repeat

- ПЦР с использованием одного или нескольких праймеров длиной 15-24 н.





# ISSR molecular characterization and leaf volatiles analysis of *Pittosporum undulatum* Vent. naturalized in the Azores archipelago (Portugal)

Marta D. Mendes<sup>a</sup>, A. Sofia Lima<sup>a</sup>, Helena Trindade<sup>a,\*</sup>, Ana Isabel D. Correia<sup>b</sup>, José G. Barroso<sup>a</sup>, Luis G. Pedro<sup>a</sup>, A. Cristina Figueiredo<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências do Ambiente, Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biotecnologia e Biorregeneração, Centro de Biotecnologia Vegetal, C2, Campo Grande, 1700-016 Lisboa, Portugal  
<sup>b</sup> Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências do Ambiente, Departamento de Biologia Vegetal, Centro de Biologia Ambiental, C2, Campo Grande, 1700-016 Lisboa, Portugal

## ARTICLE INFO

Article history:  
Received 28 July 2010  
Received revised form 16 December 2010  
Accepted 10 January 2011  
Available online 31 January 2011

**Keywords:**  
*Pittosporum undulatum*  
Phytosporaceae  
Molecular markers  
Limonene  
Sabinene  
Terpinen-4-ol

## ABSTRACT

*Pittosporum undulatum* from the Azores archipelago was characterized by both molecular and volatile analyses. Inter simple sequence repeat (ISSR) evaluation was performed based on a random sampling of 77 individuals from a total of 123 samples collected on all the Azorean islands. Molecular studies of the samples mainly according to the geographical collection site, with some exceptions. Leaf volatiles were isolated by distillation-extraction and analyzed by gas chromatography (GC) and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) from all the 123 samples. Cluster analysis based on the leaf volatiles chemical composition defined three main clusters, not related to sample site collection, and was based mainly on the relative amounts of limonene (3–80%), sabinene (0.1–64%) and terpinen-4-ol (traces–43%). Clusters obtained from both molecular studies and volatile oils could be drawn. The results suggest that there is a high genetic variability among individuals of *P. undulatum* that can explain the invasive ability of this species in the Azores archipelago. The detailed characterization to help its eradication may assist finding potential commercial uses as well as management strategies to help its eradication and/or control.

© 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 1. Introduction

*Pittosporum undulatum* Vent. is a member of the Pittosporaceae, a family with nine genera with about 200 species worldwide (Heywood, 1985; Whitmore and McClintock, 2008). Known by the common English name of sweet pittosporum (García Gallo et al., 2008), *P. undulatum* is an evergreen 5–15 m tall temperate-tropical tree with wavy edged leaves. When crushed, the leaves give off a pungent odour from which the common name of incense (incense) is derived in the Azores (Dias et al., 2007a). The white-creamy flowers are grouped in loose umbelate cymes and have a jamaica-like odour at maturation. The fruits are capsules that are orange when ripe, sticky and possess a strong odour.

This species is native to south-east Australia (Cayzer et al., 2000). It has been introduced in several countries as an ornamental or for protection against wind (Cayzer et al., 2000; Ferreira et al., 2007). In the Azores, it has been used primarily for protection of orange tree plantations, and it exists on all nine islands of the archipelago (Siligren, 2001; Dias et al., 2007b; García Gallo et al., 2008). The presence of this species in the Azores has created a large problem of biodiversity erosion and decrease in native species richness, as this alien weed produces a large number of seeds and has a high colonizing and regeneration capacity (Silva and Smith, 2006; García Gallo et al., 2008). As a result of its size and weight it also contributes to hillside erosion, due to overflows that can cause uprooting (Dias et al., 2007a). Studies are now being pursued to evaluate the potential threat of *P. undulatum* for current natural vegetation remnants in São Miguel (Hortal et al., 2010). Although future control measures will be mainly dependent on the availability of native plant species to gradually replace *P. undulatum*, finding economic use for this species would be also desirable.

In the Azores archipelago, *P. undulatum* is used as a source of wood for firewood, for carving (production of wood-spoons in Santa Maria) and, due to the large amount of nectar in its flowers, it is recorded as good for honey production commercialized as incense

Abbreviations: HSA, hexane soluble alkaloids; CTAB, cetyl trimethylammonium bromide; EDTA, ethylenediamine tetraacetic acid; GC, gas chromatography; GC-MS, gas chromatography-mass spectrometry; ISSR, inter simple sequence repeat; ITS, internal transcribed spacer; PVV, polyvinylpyrrolidone; TAE, tris-acetate-EDTA buffer; TR, Tris-EDTA buffer.  
\* Corresponding author. Tel.: +351 21 7500199; fax: +351 21 7500048.  
E-mail address: htrindade@ci.ulisboa.pt (H. Trindade).

The original publication is available at <http://www.springerlink.com>

## ISSR as new markers for genetic characterization and evaluation of relationships among phytoplankton

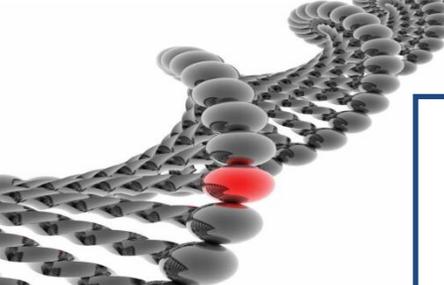
Benjamin Bornet<sup>1,\*</sup>, Elisabeth Antoine<sup>1</sup>, Michèle Bardouil<sup>1</sup> and Claire Marcaillou-Le Baut<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire Phycotoxines et Nuisances, DEL-MP-PN, IFREMER, rue de l'Île d'Yeu, BP 21105, 44311 NANTES Cedex 3, France.

\* Corresponding author : [bbornet@wanadoo.fr](mailto:bbornet@wanadoo.fr)

**Abstract:** Abstract In order to increase the molecular tools and markers needed for the identification of phytoplankton species, the inter simple sequence repeat (ISSR) fingerprinting was adapted to micro-algae and its use in genetic analysis was demonstrated. Twelve strains, 6 *Alexandrium*, 4 *Pseudo-nitzschia*, 1 *Skeletonema* and 1 *Tetraselmis* were analysed for the first time with ISSR amplifications. The patterns were highly polymorphic and very reproducible. The 6 primers gave 223 polymorphic markers that clearly and easily distinguished all 12 strains (mainly toxic ones) and gave 187 polymorphic markers among the *Alexandrium* and the *Pseudo-nitzschia* species. ISSR amplifications also indicated a large occurrence of simple sequence repeat (SSR) in phytoplankton genomes, especially in *Pseudo-nitzschia*, and show their usefulness to cluster intra and inter species. SSR markers were found to be good markers for genetic characterization and diversity study and led to consider them as new tools for the survey of phytoplankton.

**Keywords:** *Alexandrium* - fingerprints - genetic characterization and diversity - ISSR - *Pseudo-nitzschia* - *Skeletonema* - *Tetraselmis*



[botanicblog.ru](http://botanicblog.ru)

Блог о ботанике и биотехнологиях

[Главная](#) » [Публикации](#) » [«Биотехнология — 2010»](#) » Использование ISSR-анализа для

идентификации и паспортизации растений в коллекциях генетических банков *in vitro*

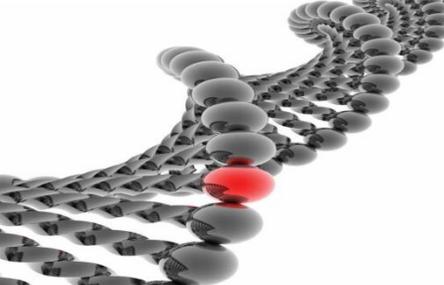
## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ISSR-АНАЛИЗА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ПАСПОРТИЗАЦИИ РАСТЕНИЙ В КОЛЛЕКЦИЯХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ БАНКОВ *IN VITRO***

Авторы: Е.М. Ветчинкина, И.А. Шанцер (Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН, Россия, г. Москва).

В последнее десятилетие наряду с традиционными приемами исследований все более широкое использование получают молекулярно-генетические методы, с применением которых, в настоящее время созданы ДНК-банки ценных, редких и исчезающих видов растений, проводятся исследования по изучению внутривидовой изменчивости сохраняемых объектов, уточнению спорных вопросов их систематики и классификации, разработке методики генетической паспортизации популяций и исследованию генетической стабильности хранящихся *ex situ* таксонов [1,2,3,4]

Семена некоторых представителей рода *Iris*, в частности редких видов подрода *Iris* (*I. prumila*, *I. aphylla*, *I. scariosa*, *I. variegata*) и видов серии *Spuriae* подрода *Xyridion* (*I. notha*) [5] практически не отличимы по анатомо-морфологическим признакам, что затрудняет работу по созданию генетических банков *in vitro*, т.к. в спорных случаях на установление подлинности образцов может уйти (в зависимости от глубины покоя семян) до трех – пяти лет. Использование высокоэффективных молекулярных методов, таких как ISSR-анализ, дает возможность для быстрой и точной идентификации генетической подлинности образцов на родовом, видовом и популяционном уровне [6, 7, 8], что может способствовать решению проблемы.

При проведении ISSR-анализа протестировано 14 ISSR-праймеров, из которых для дальнейшего анализа было отобрано 8, обеспечивающих получение достаточного количества



# AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism

Сложный метод анализа, состоящий из нескольких этапов:

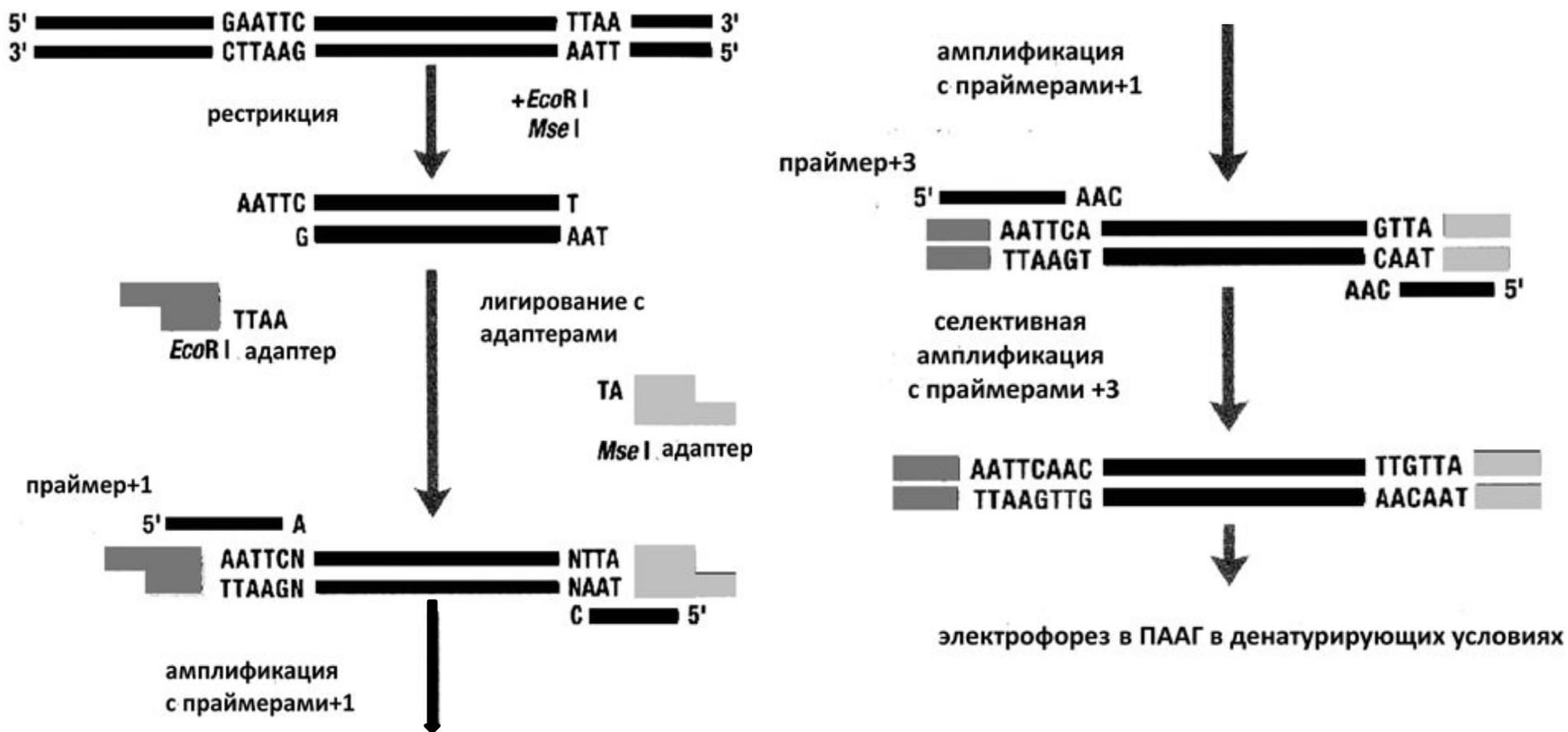
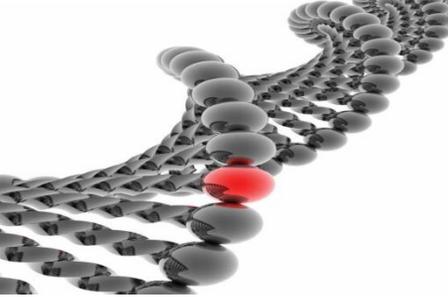


Схема одного из вариантов AFLP анализа (Zabeau, Vos, 1993)



© Ю. В. Михайлова<sup>1, 5</sup>,  
Г. Л. Гусарова<sup>2, 5</sup>, К. Брокман<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Ботанический институт  
им. В. Л. Комарова РАН,  
Санкт-Петербург

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет,  
Санкт-Петербург

<sup>3</sup> Национальный центр биосистематики, Университет г. Осло

✳ С помощью мультилокусных маркеров AFLP была изучена молекулярная изменчивость в 49 популяциях *Silene acaulis*. Получены данные в пользу послеледниковой колонизации севера из рефугиумов, расположенных в горных районах юга Европы. Большинство северо-европейских популяций характеризуются низким уровнем генетического разнообразия и слабо выраженной генетической структурой, по сравнению с южными монтанными популяциями. Колонизация *Silene acaulis* высокоарктического архипелага Шпицберген осуществлялась из разных источников, среди которых наиболее значимым была восточная Гренландия.

✳ Ключевые слова: филогеография; *Silene acaulis*; четвертичный период; AFLP; рефугиум; послеледниковая колонизация; арктоальпийская флора.

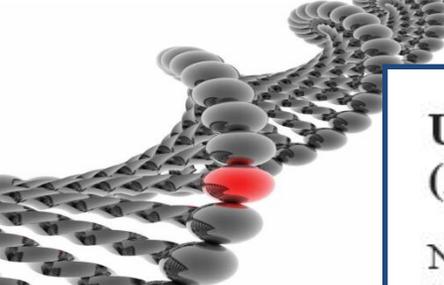
## МОЛЕКУЛЯРНАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ФИЛОГЕОГРАФИЯ СМОЛЕВКИ БЕССТЕБЕЛЬНОЙ *SILENE ACAULIS* (L.) JACQ. (CARYOPHYLLACEAE) НА СЕВЕРЕ ЕВРОПЫ И АРХИПЕЛАГЕ ШПИЦБЕРГЕН

### ВВЕДЕНИЕ

Климатические изменения плейстоцена оказали значительный эффект на формирование арктической флоры. Сухой и холодный климат во время покровных оледенений сменялся относительно благоприятным в периоды межледниковий. Ледник отступал и распространялся неоднократно, изменяя места обитания живых организмов, которые были вынуждены мигрировать или погибать. Виды, приспособленные к суровому холодному климату, имели более широкое распространение по сравнению с их современным ареалом (Birks, 2008). Местом их обитания была обширная тундростепь. Виды более умеренного климата находили убежища (рефугиумы) на юге, на непокрытых льдом территориях. Таким образом, бореальные виды переживали «эффект бутылочного горлышка» в ледниковый период, тогда как, приспособленные к экстремальным арктическим условиям — в периоды межледниковья.

Значительный вклад в изучение вопросов истории послеледникового расселения видов внесли филогеографические исследования последнего времени. Зная генетическое разнообразие и структуру видов, можно предположить, как формировались их современные ареалы. Области, которые были рефугиумами, должны иметь высокий уровень генетического разнообразия, тогда как территории, заселенные после отступления ледника, — более низкий из-за эффекта основателя и дрейфа генов. Исключением могут быть контактные зоны или зоны «швов» — участки, где мигранты из двух различных рефугиумов встретились во время послеледниковой реколонизации (Hewitt, 1996).

Для наиболее полной характеристики генетической изменчивости вида, необходимо изучение достаточного числа локусов. С этой точки зрения наиболее интересны многолокусные маркеры, в частности, полиморфизм длины амплифицированных фрагментов (AFLP) (Vos et al., 1995). Статистические подходы анализа многолокусных данных, включая методы Байесовской классификации, позволяют тестировать сложные филогеографические гипотезы, например, о географическом местонахождении ледниковых убежищ и происхождении современных популяций. Так, для голубики, ключевого компонента северных экосистем, с использованием хлДНК, ITS и AFLP показана очень сложная генетическая структура, которая объясняется быстрым распространением из ряда рефугиумов с формированием нескольких контактных зон



## USING AMPLIFIED FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISMS (AFLP) TO IDENTIFY BLACK COHOSH (*ACTAEA RACEMOSA*)<sup>1</sup>

NYREE J. C. ZEREGA, SCOTT MORI, CHARLOTTE LINDQVIST,  
QUNYI ZHENG, AND TIMOTHY J. MOTLEY

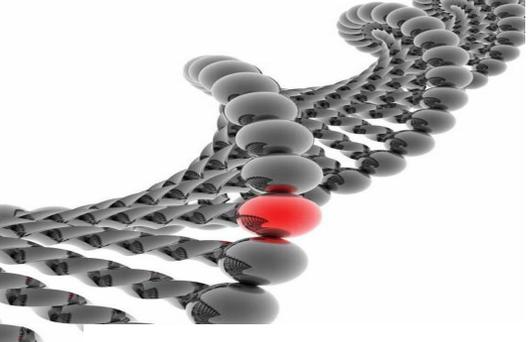
---

Zerega, Nyree J. C., Scott Mori (New York Botanical Garden, Bronx, NY 10458, USA), Charlotte Lindqvist (Norwegian Forest Research Institute N-1432 As, Norway), Qunyi Zheng (Pure World Botanicals, Inc., South Hackensack, NJ, USA), and Timothy J. Motley (New York Botanical Garden, Bronx, NY 10458, USA). USING AMPLIFIED FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISMS (AFLP) TO IDENTIFY BLACK COHOSH (*ACTAEA RACEMOSA*). *Economic Botany* 56(2):154–164, 2002. The rhizome of *Actaea racemosa* L., commonly called black cohosh, is a popular botanical dietary supplement used to treat female health concerns. The rhizomes used in black cohosh products are often collected from the wild. To ensure quality control, it is imperative that plants be correctly identified. This paper examines the use of the DNA fingerprinting technique, AFLP, as an analytical means of identifying *A. racemosa* from three other closely related sympatric species. To this end, 262 AFLP markers were generated, and one unique fingerprint was identified for *A. racemosa*, whereas two, six, and eight unique fingerprints were identified for the closely related species *A. pachypoda*, *A. cordifolia*, and *A. podocarpa*, respectively. Two commercial black cohosh products were also subjected to AFLP analysis and shown to contain only *A. racemosa*. The results of this study suggest that AFLP analysis may offer a useful method for quality control in the botanical dietary supplements industry.

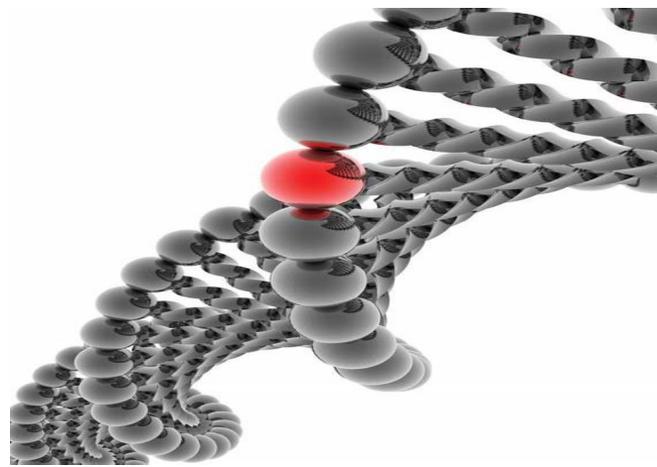
DIE VERWENDUNG VON AFLP-MUSTERN ZUR IDENTIFIKATION VON BLACK COHOSH (*ACTAEA RACEMOSA*). Das Rhizom von *Actaea racemosa* L., allgemein als 'black cohosh' bezeichnet, ist eine beliebte pflanzliche Diätsergänzung, die für weibliche Gesundheitsprobleme benutzt wird. Oft sind die in 'black cohosh'-Produkten verwendeten Rhizome in freier Natur gesammelt. Um Qualitätskontrolle zu sichern, ist es zwingend, die Pflanzen richtig zu identifizieren. Diese Studie überprüft den Gebrauch der DNA-Fingerabdrucktechnik, AFLP, als analytisches Mittel der Identifizierung, um *A. racemosa* von drei anderen in ihrer Nähe beheimateten und nah verwandten Spezies zu unterscheiden. Zu diesem Zweck wurden 262 AFLP-Fingerabdrücke erzeugt. Für *A. racemosa* wurde ein einzigartiger Fingerabdruck identifiziert, während für die nah verwandten Spezies *A. pachypoda* zwei, *A. cordifolia* sechs, und *A. podocarpa* acht einzigartige Fingerabdrücke gefunden wurden. Zwei kommerzielle 'black cohosh'-Produkte wurden ebenfalls der AFLP-Analyse unterzogen, wobei nur *A. racemosa* nachgewiesen werden konnte. Die Resultate dieser Studie zeigen, daß die AFLP-Technik eine nützliche Methode für die Qualitätskontrolle in der pflanzlichen Diätsergänzungsindustrie bieten kann.

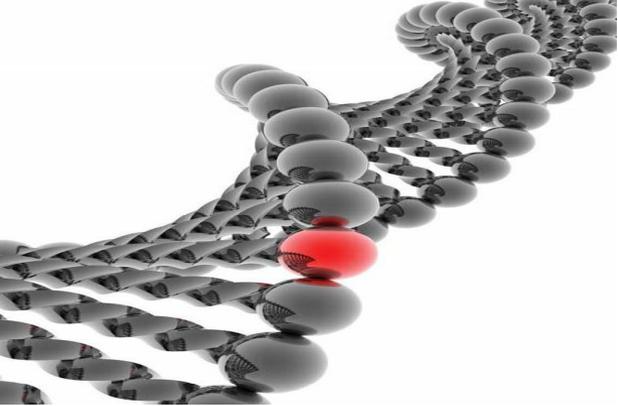
**Key Words:** AFLP, black cohosh, *Actaea racemosa*; DNA fingerprinting; botanical dietary supplements; Ranunculaceae; *Cimicifuga racemosa*.

---

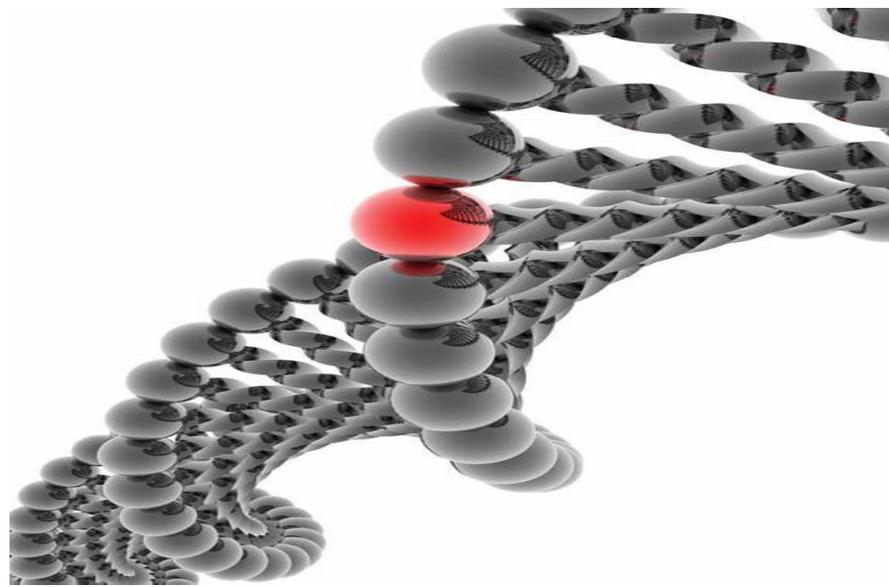


Таким образом, в настоящее время молекулярные маркеры активно используются для решения различных вопросов, связанных с определением видовой принадлежности, выяснения степени родства различных групп организмов, их генетического полиморфизма и филогеографии, а также в практических целях для обнаружения того или иного полезного признака.





**СПАСИБО  
ЗА  
ВНИМАНИЕ!**



Филогеография объединяет филогению и пространственные паттерны. Иными словами, филогеография изучает пространственное распределение генеалогических групп.

Различные взаимоотношения между генеалогией генов и географией стали обозначаться как филогеографический паттерн.