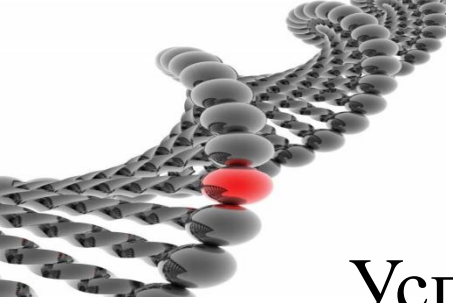
# "Ключевые методы молекулярной биологии. Фрагментный анализ"

Докладчик: Шадрин Д.М.
e-mail: shdima@ib.komisc.ru

# Виды-двойники

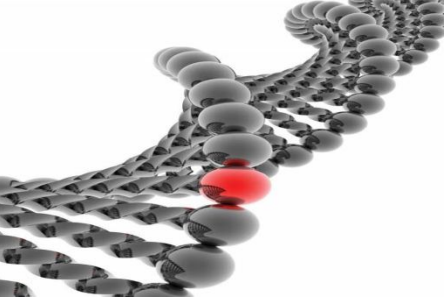
Fragaria orientalis Losinsk. - **вид-двойник** F. moschata. Отличается одной интересной особенностью: тычинки или пестики обычно отмирают, в результате чего цветок функционально однополый



# Актуальность:

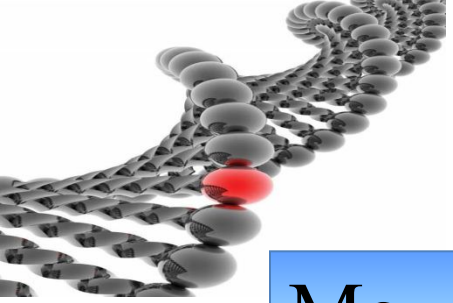
Успехи в развитии генетических исследований обусловлены наличием информативных генетических маркеров

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

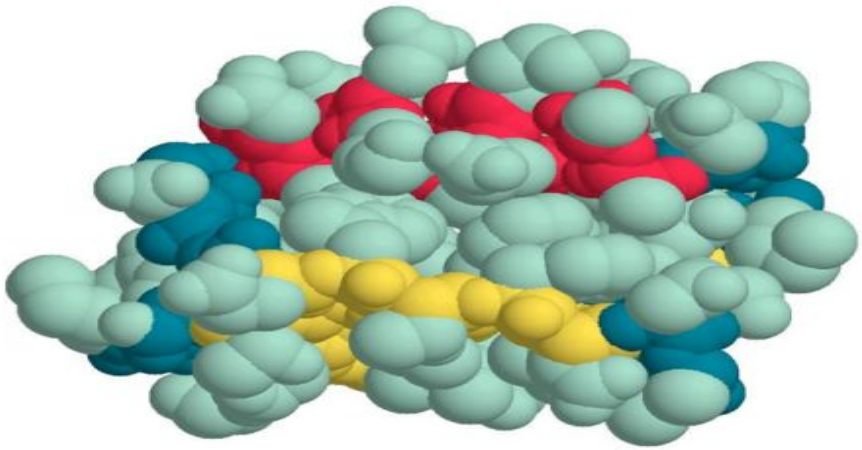
1. Для характеристики генетической гетерогенности (наличие в популяции разных аллелей генов)
2. Для изучения уровня и структуры генетического разнообразия популяций (средняя гетерозиготность, число аллелей на локус, генетическое расстояние)
3. Для идентификации сортов растений и пород животных
4. Для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

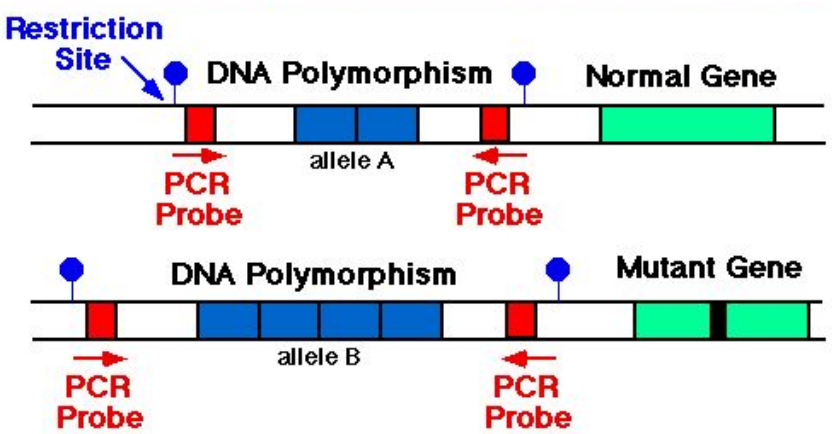


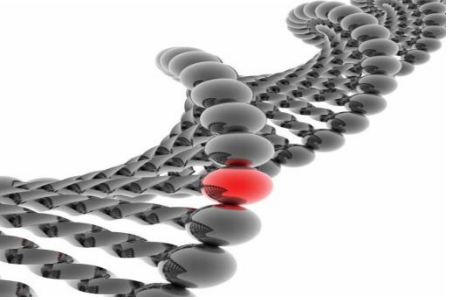
# Классификация

## Молекулярно-генетические маркеры

- Биохимические маркеры
- ДНК маркеры





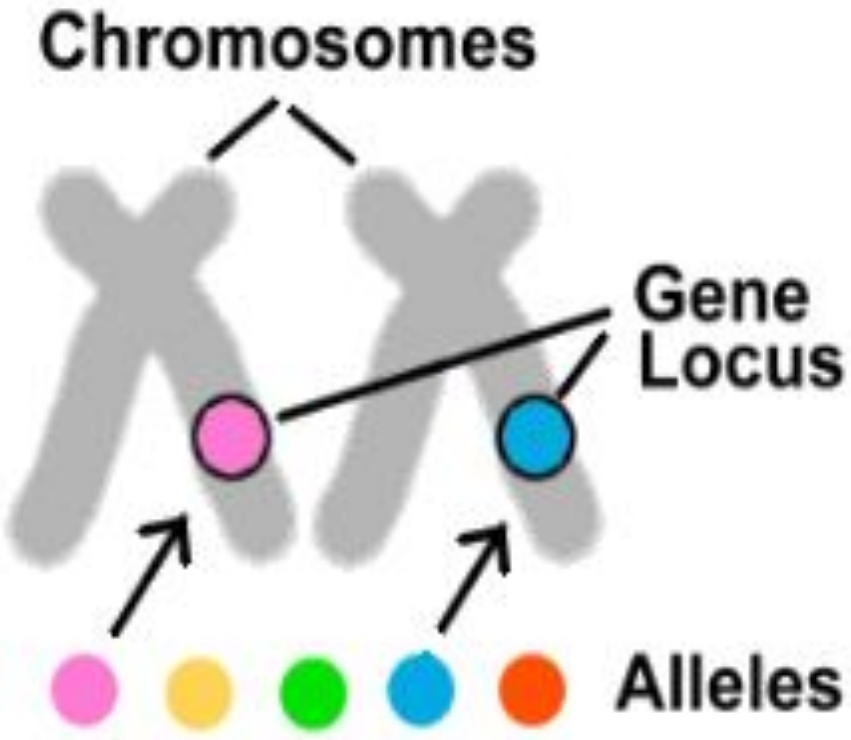


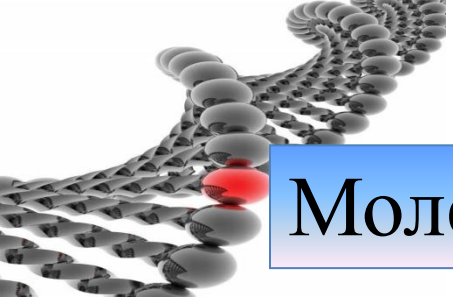
# Термины классической генетики

- 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.

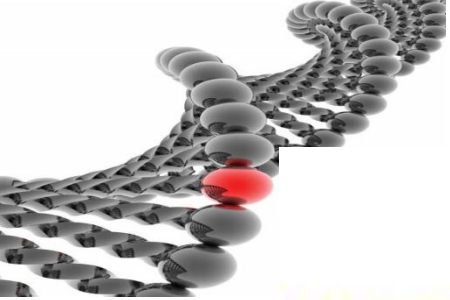


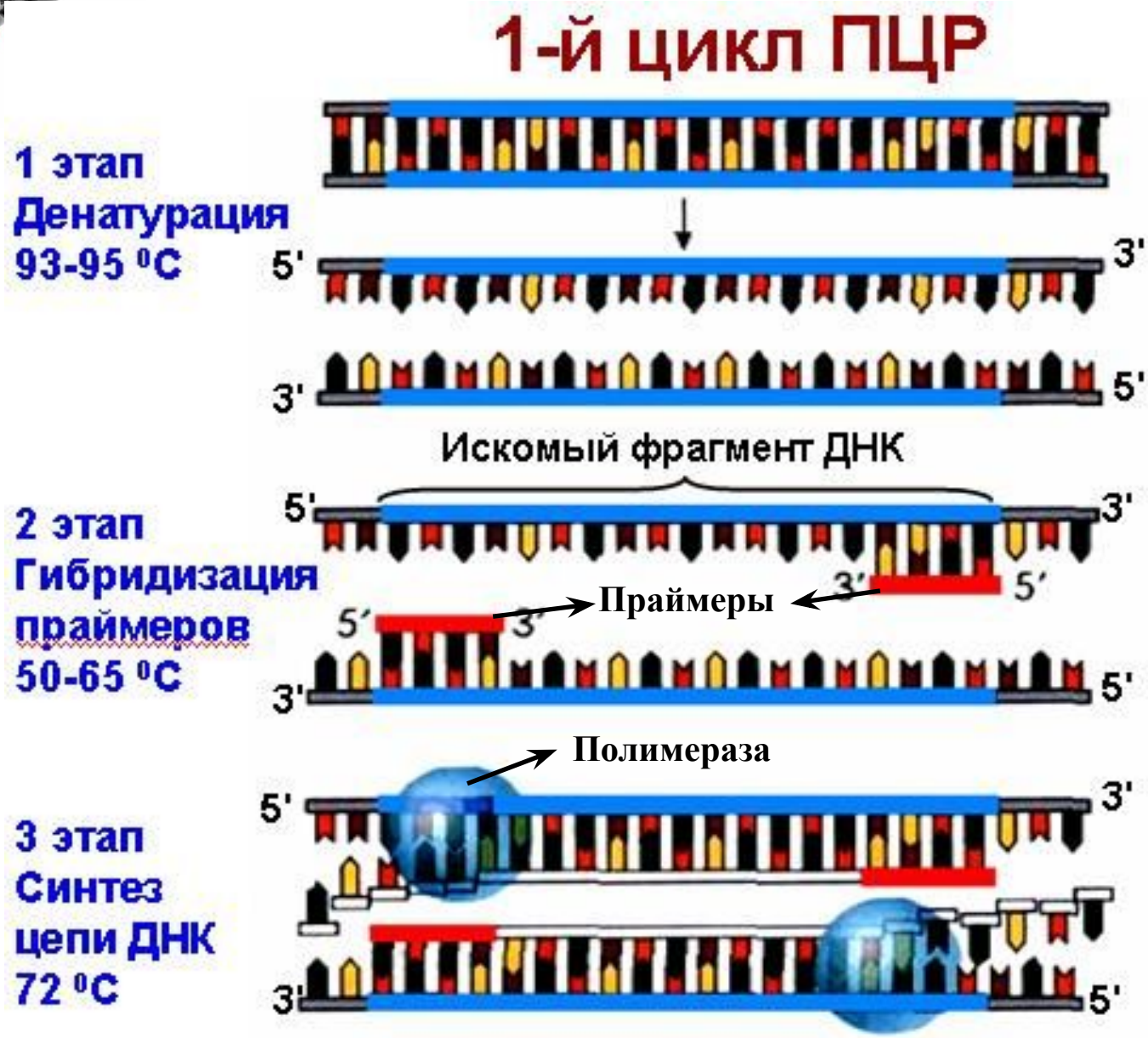


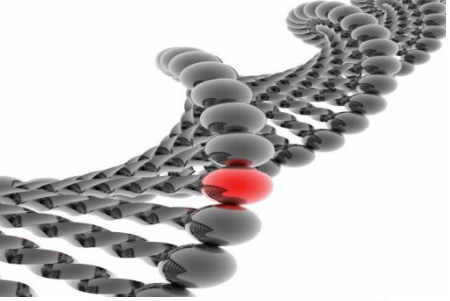
# Классификация

- Молекулярно-генетические маркеры
  - Биохимические маркеры
  - ДНК маркеры
    - Основанные на блот-гибридизации
    - Основанные на ПЦР
    - Основанные на ДНК-чипах

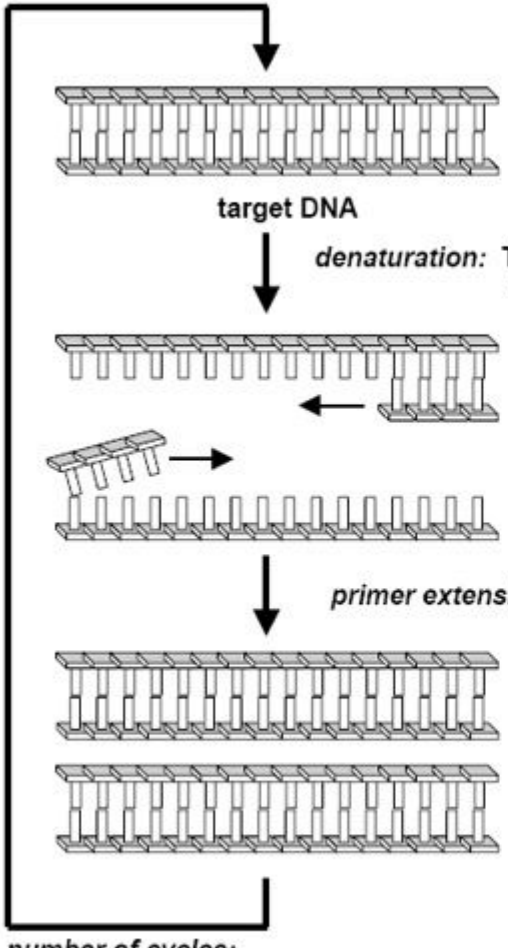
# ПЦР – полимеразная цепная реакция



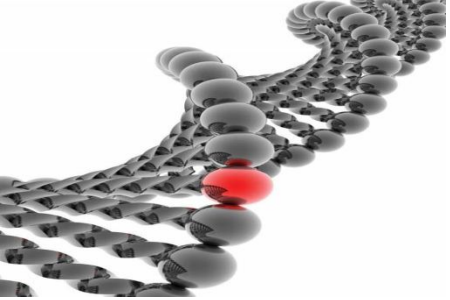




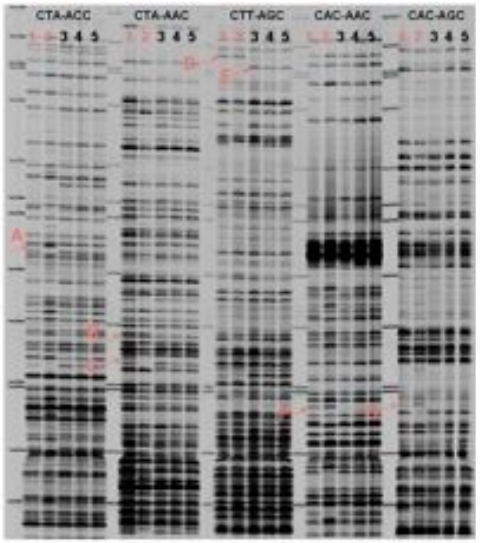
# ПЦР – полимеразная цепная реакция

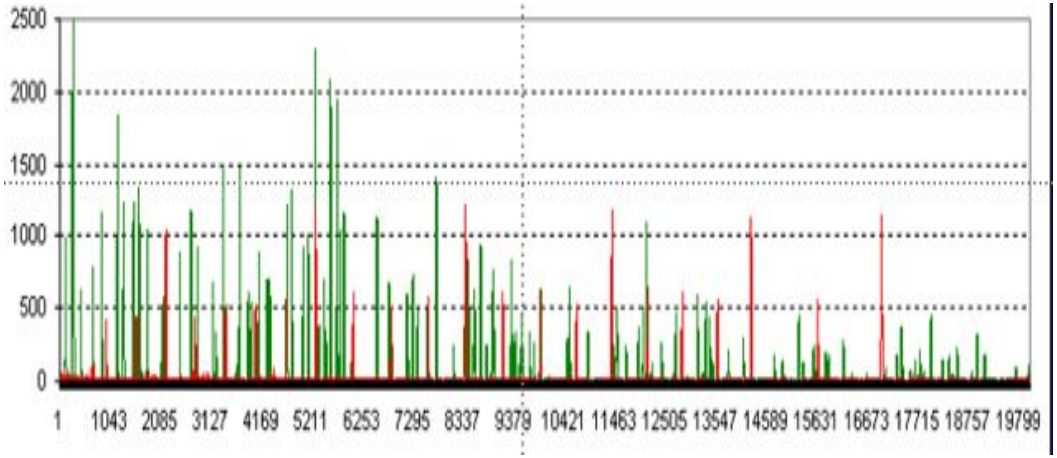


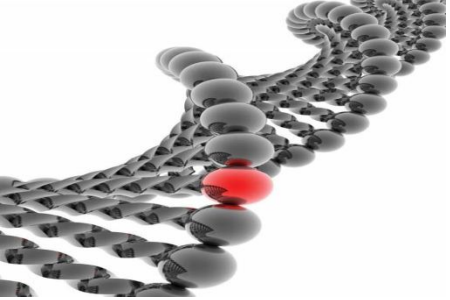

| cycle number | target copies |
|---|---|
| 1 | 2 |
| 2 | 4 |
| 3 | 8 |
| 4 | 16 |
| 5 | 32 |
| 6 | 64 |
| 20 | 1,048,576 |
| 30 | 1,073,741,824 |



# Детекция полиморфизма продуктов ПЦР

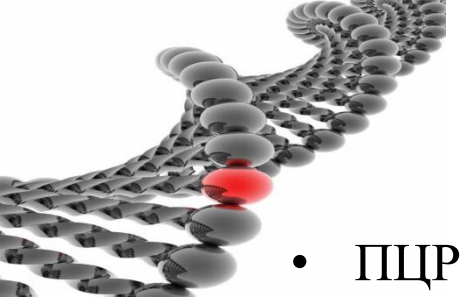




# Молекулярные маркеры, основанные на ПЦР

- 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

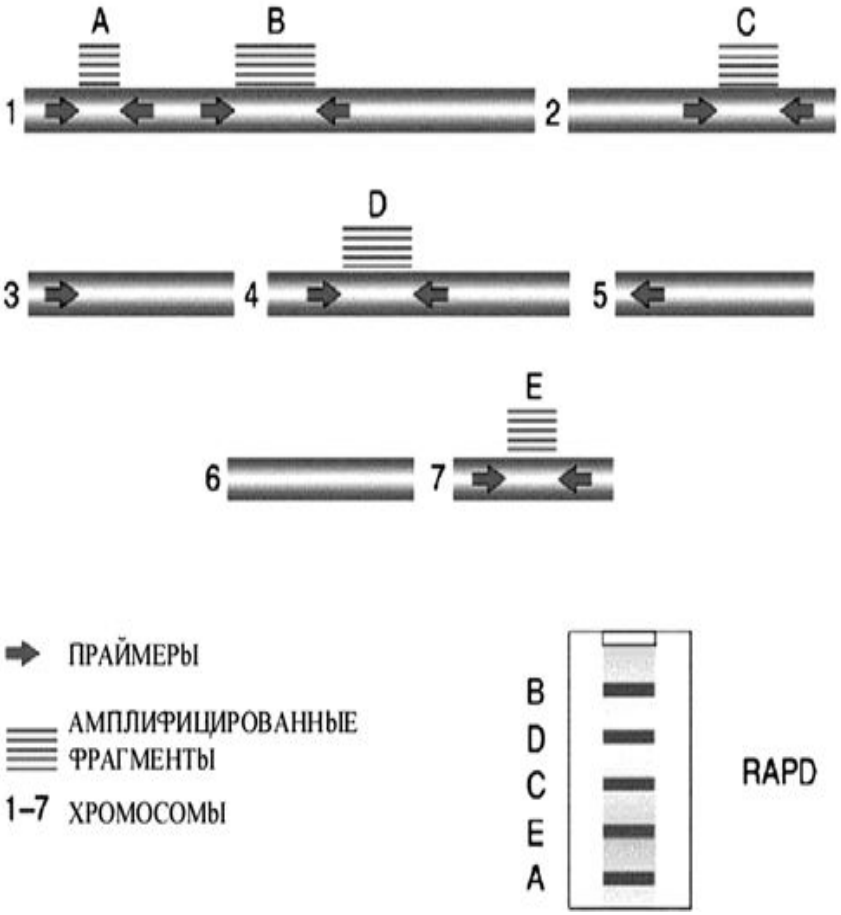
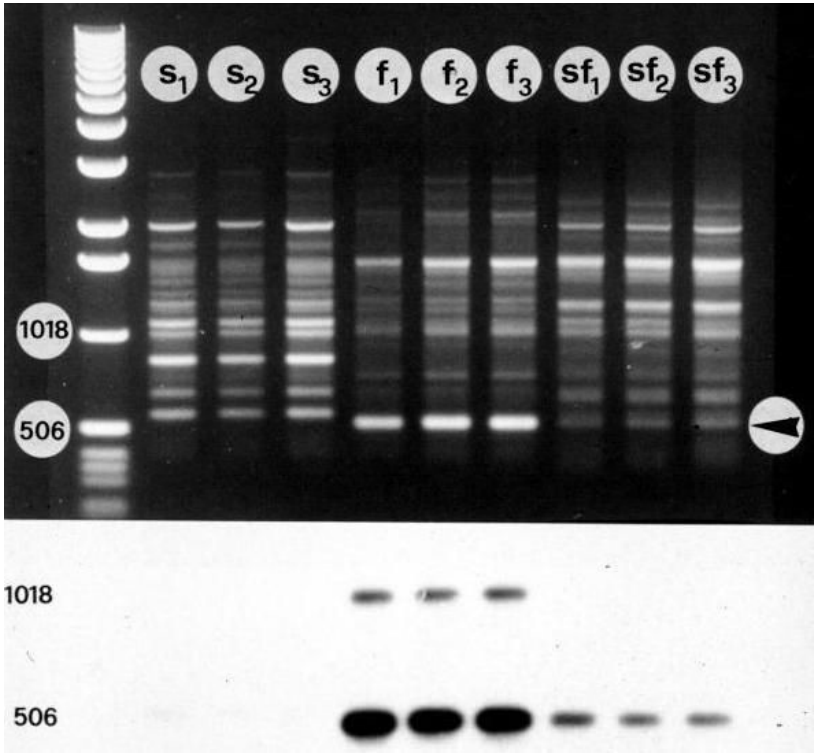
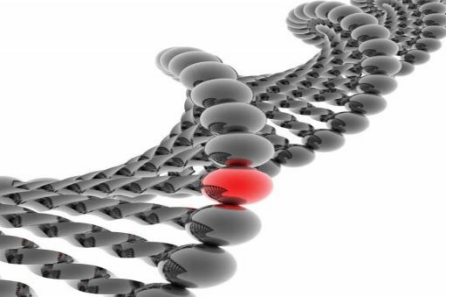



Схема RAPD анализа (Williams et al., 1990)




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

ANIMAL REPRODUCTION SCIENCE

www.elsevier.com/locate/anireprosci

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

B.C.A. Alves [a], M.M. Unanian [b], E. Silva [b], M. Oliveira [c], C.A. Moreira-Filho [a,*]

[a] *Departamento de Imunologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, Sao Paulo, SP, Brazil*

[b] *Centro de Pesquisa em Pecuaria do Sudeste, CPPSE-Embrapa, São Carlos, SP, Brazil*

[c] *Lagoa da Serra, Sertãozinho, SP, Brazil*

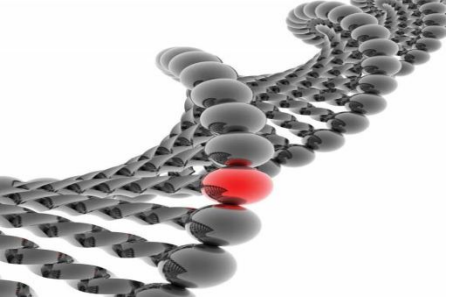
Received 22 July 2003; received in revised form 16 February 2004; accepted 4 March 2004

**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

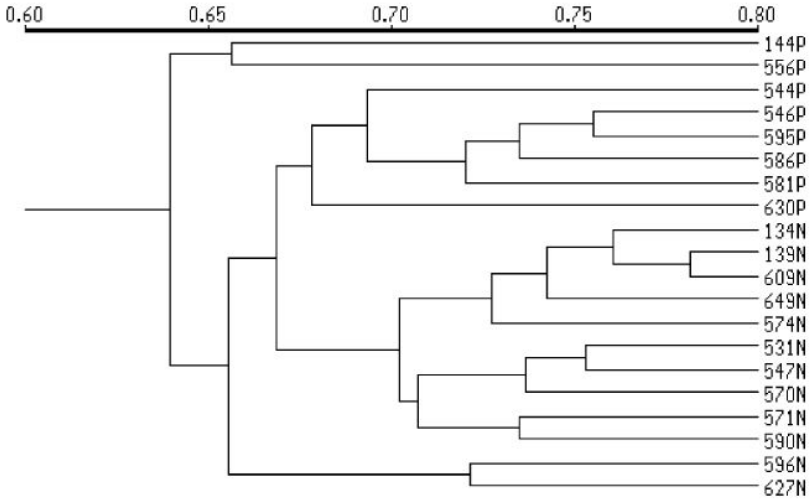


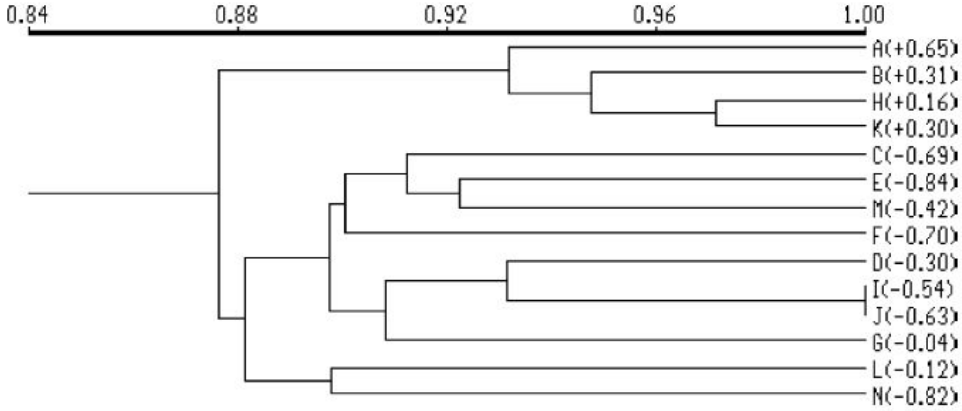
# Use of RAPD markers for identifying Nelore bulls with early reproductive maturation onset

B.C.A. Alves [a], M.M. Unanian [b], E. Silva [b], M. Oliveira [c], C.A. Moreira-Filho [a,*]

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 | ACCCCCGAAG | 11 | 05 |
| OPC-07 | GTCCCGACGA | 08 | 04 |
| OPC-17 | TTCCCCCCAG | 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 | TCTCCGCTTG | 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 | AGGGTCGTTC | 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 | TCGGCGGTTC | 10 | 01 |
| OPO-18 | CTCGCTATCC | 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 РАЗНООБРА
# *LATHYRUS SATIVUS* L. ИЗ КОЛЛЕКЦИИ ВИР

**М.О. Бурляева, М.А.Вишнякова**

ГНУ ВИР Россельхозакадемии, Санкт-Петербург, Россия, e-mail: m.burlyaeva@vir.r

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

**Ключевые слова:** *Lathyrus sativus*, чина посевная, фенотипическое и генетическое разнооб
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 внутри
классификаций чины посевной, из
наиболее информативной мы считаем
фикацию, созданную в ВИР монограф
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 темноокра-шенными и светлоокрашенными семенами и цветками дала основание для выделения двух подвидов (климатипов):

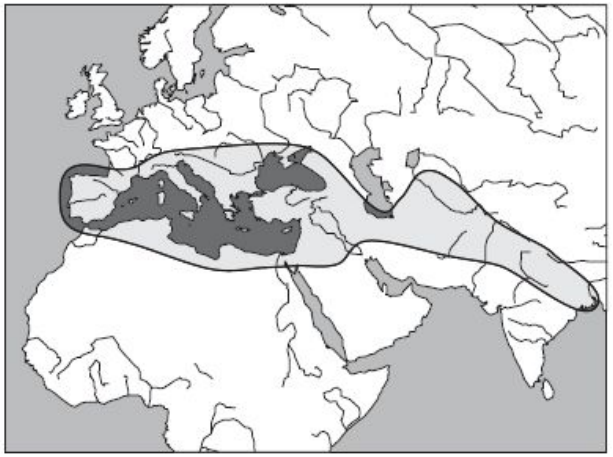


**Рис. 1.** Ареал *L. sativus* (по: Ф.Л. Залкинд, 1937).

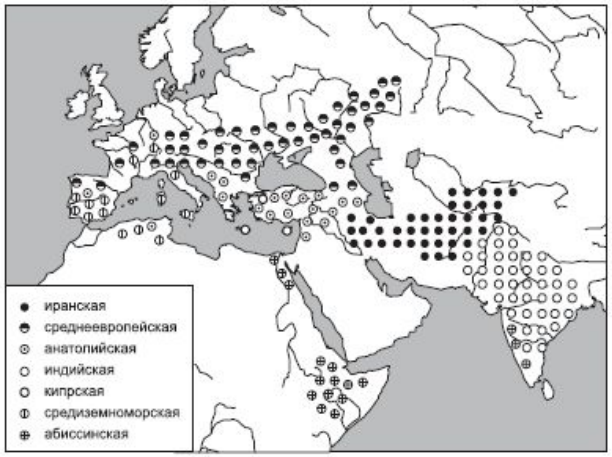



**Рис. 2.** Географическое распространение групп разновидностей *L. sativus* (по: Залкинд Ф.Л., неопубл.

# 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.burlyaeva@vir.nw.ru

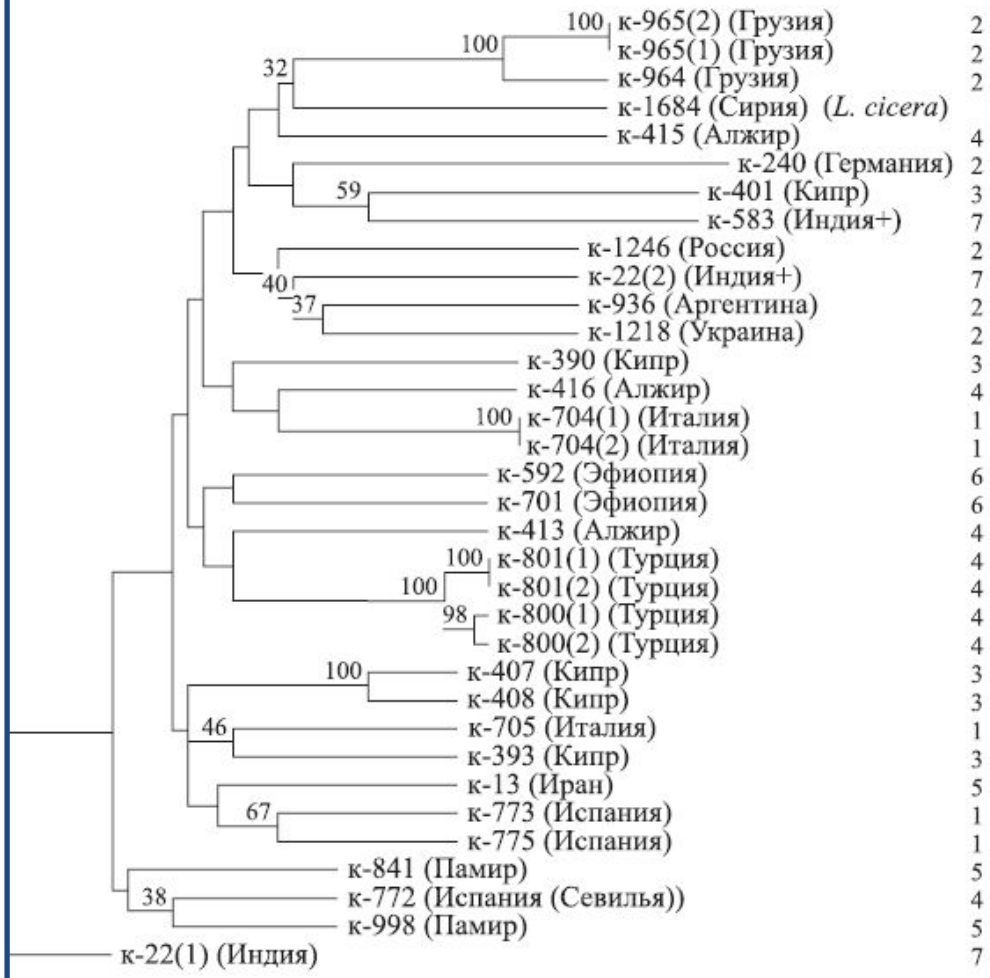
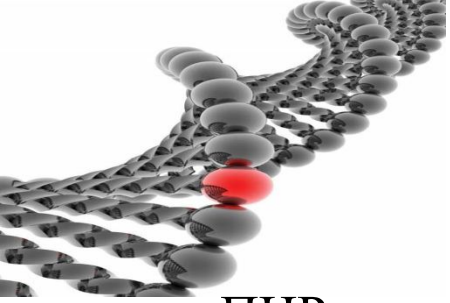



**Рис. 5.** Кладограмма UPGMA, полученная на основе сравнительного анализа 185 полиморфных амплифицированных RAPD-фрагментов образцов *L. sativus* (из разных эколого-географических групп) и *L. cicera*. («+» – естественные гибриды $F_1$ указанных образцов с образцами европейского подвида).

1 – средиземноморская группа – страны Средиземноморья; 2 – среднеевропейская – Средняя Европа и европейская часть России; 3 – кипрская – о-ва Кипр и Крит; 4 – анатолийская – Малая Азия, Закавказье, горная Кабилия; 5 – иранская – Афганистан, Иран, Сирия, Средняя Азия; 6 – абиссинская – Эфиопия, Египет; 7 – индийская – Индия.



# 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 CA G**

# ISSR – Inter Simple Sequence Repeat

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

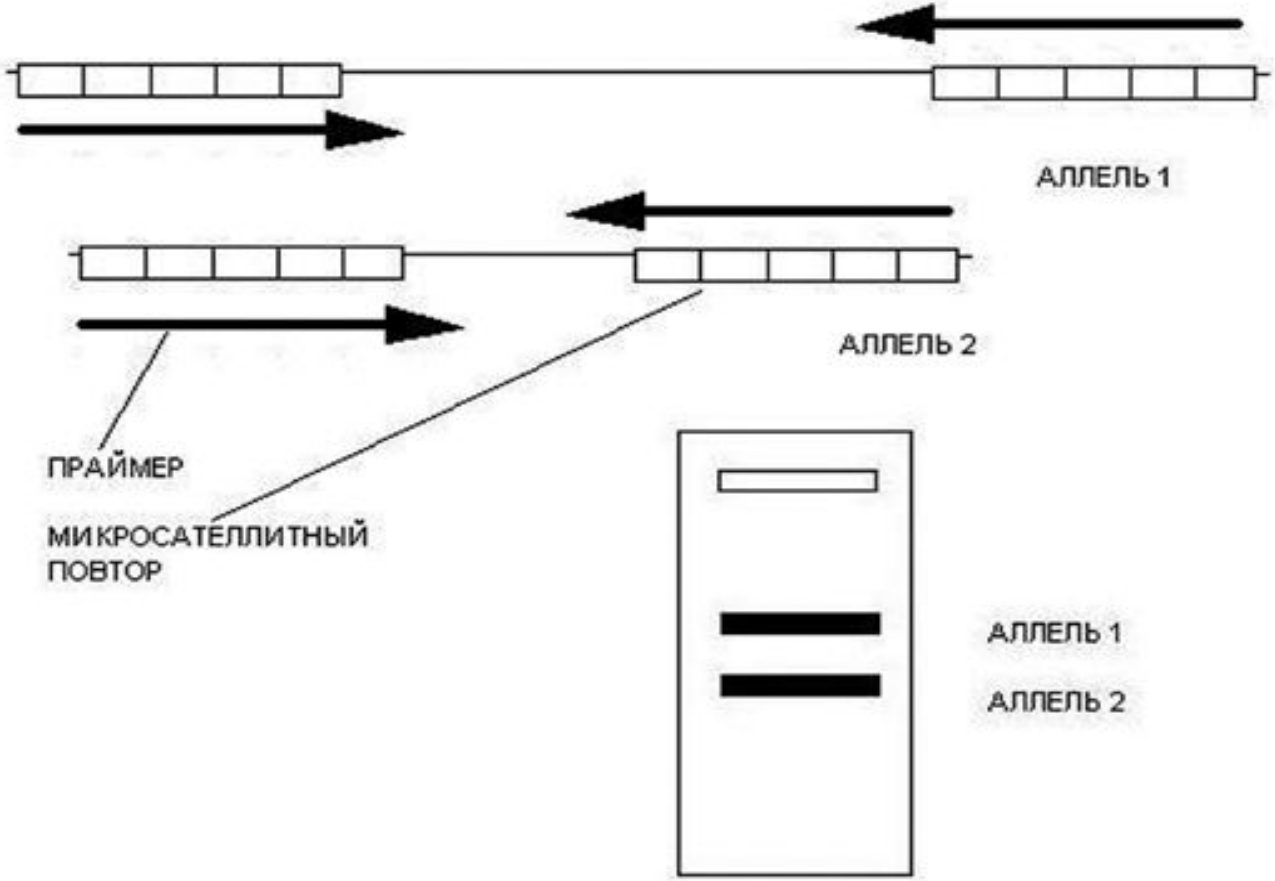



Схема ISSR анализа (Zietkiewicz et al., 1994; Gupta et al., 1994; Bornet, Branchard, 2001)

Industrial Crops and Products 33 (2011) 710–719

Contents lists available at ScienceDirect

Industrial Crops and Products

Journal homepage: www.elsevier.com/locate/indcrop

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

Marta D. Mendes[a], A. Sofia Lima[a], Helena Trindade[a,*], Ana Isabel D. Correia[b], José G. Barroso[a], Luis G. Pedro[a], A. Cristina Figueiredo[a]

[a] Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biotecnologia e Bioengenharia, Centro de Biotecnologia Vegetal, C2, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal
[b] Universidade de Lisboa, Faculdade de Ciências de Lisboa, Departamento de Biologia Vegetal, Centro de Biologia Ambiental, C2, Campo Grande, 1749-016 Lisboa, Portugal

ARTICLE INFO

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

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

ABSTRACT

*Pittosporum undulatum* from the Azores archipelago was characterized by both molecular and volatiles 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 grouped 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 volatiles composition were not superimposable and no correlation between ISSR markers 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 of this alien weed species 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; Whittemore and McClintock, 2008). Known by the common English name of sweet pittosporum (Garcia Gallo et al., 2008), *P. undulatum* is an evergreen 5–15 m tall temperate/subtropical tree with wavy edged leaves. When crushed, the leaves give off a pungent odour from which the common name of Incenso (incense) is derived in the Azores (Dias et al., 2007a). The white-creamy flowers are grouped in loose umbellate cymes and have a jasmine-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 (Sjögren, 2001; Dias et al., 2007b; Garcia 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; Garcia 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 Incenso

Abbreviations: BSA, bovine serum albumin; 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; PVP, polyvinylpyrrolidone; TAE, tris–acetate–EDTA buffer; TE, Tris–EDTA buffer.

* Corresponding author. Tel: +351 21 7500999; fax: +351 217500048.
E-mail address: hrtrindade@fc.ul.pt (H. Trindade).

0926-6690/$ – see front matter © 2011 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.indcrop.2011.01.010

**Journal of Applied Phycology**
August 2004; 16 (4) 285 - 290
http://dx.doi.org/10.1023/B:JAPH.0000047780.24787.93
© 2004 Springer

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

**Archimer** http://www.ifremer.fr/dc
Archive Institutionnelle de l'If

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

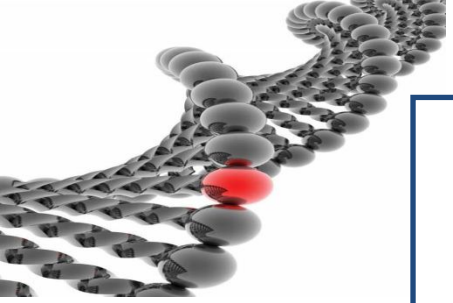
Benjamin Bornet [1,*] Elisabeth Antoine [1], Michèle Bardouil [1] and Claire Marcaillou-Le Baut [1]

[1] Laboratoire Phycotoxines et Nuisances, DEL-MP-PN, IFREMER, rue de l"Ile d"Yeu, BP 21105, 44311 NANTES Cedex 3, France.

*: Corresponding author : 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. ISSR markers were found to be good markers for genetic characterization and diversity study and led o consider them as new tools for the survey of phytoplankton.

**eywords:** Alexandrium - fingerprints - genetic characterization and diversity - ISSR - Pseudo-zschia - Skeletonema - Tetraselmis





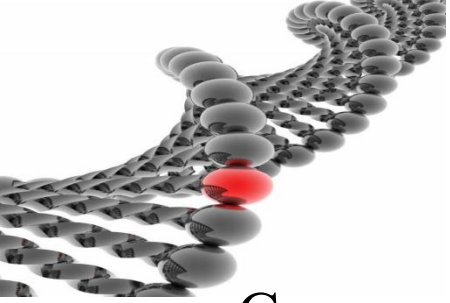
# ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ISSR-АНАЛИЗА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ПАСПОРТИЗАЦИИ РАСТЕНИЙ В КОЛЛЕКЦИЯХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ БАНКОВ IN VITRO

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.pumila, 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:

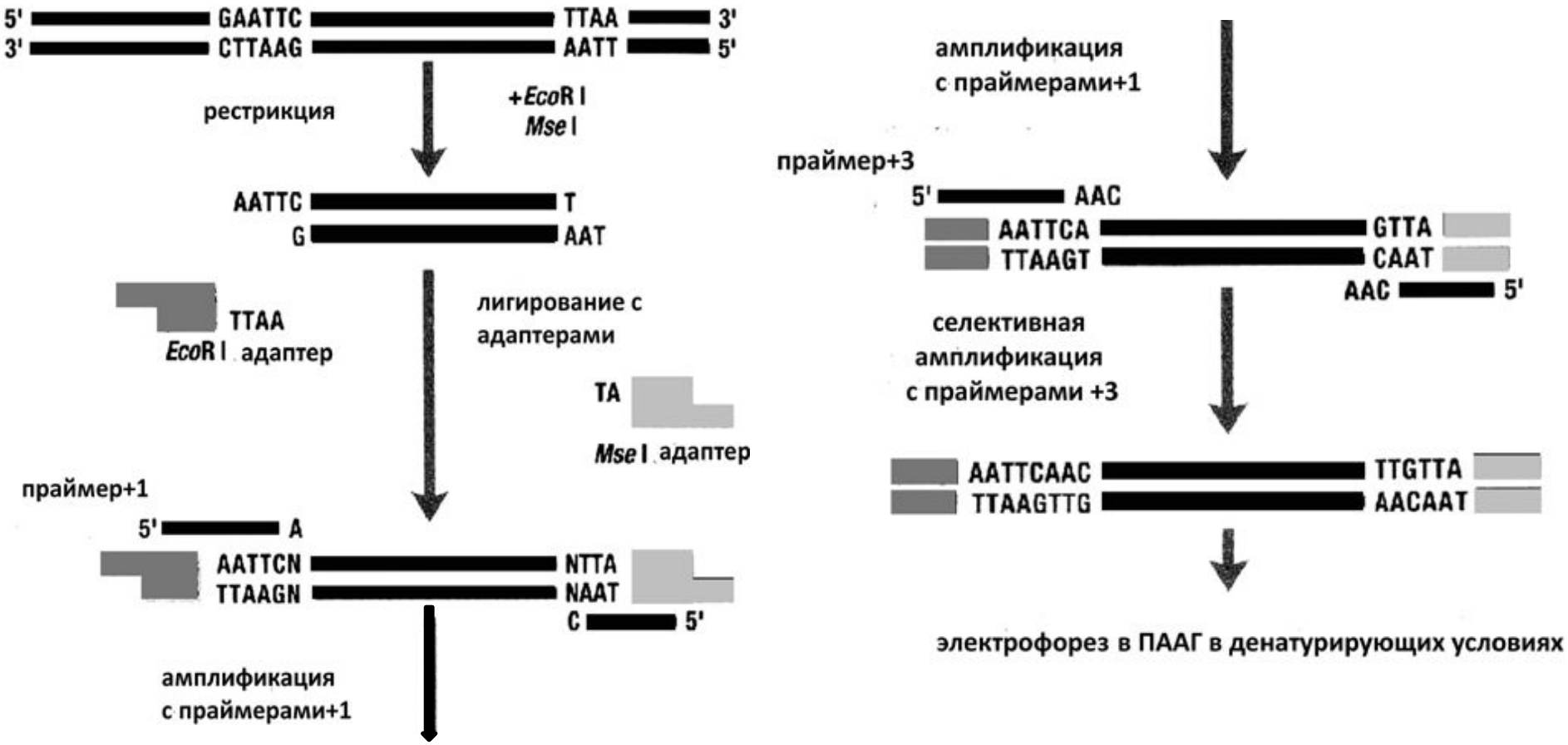
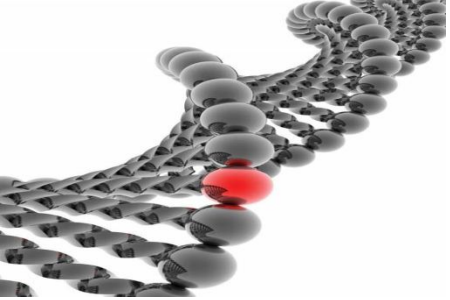



Схема одного из вариантов AFLP анализа (Zabeau, Vos, 1993)





УДК 575.174.015.3

© Ю. В. Михайлова[1,3], Г. Л. Гусарова[2,3], К. Брохман[3]

[1] Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН, Санкт-Петербург
[2] Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург
[3] Национальный центр биосистематики, Университет г. Осло

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

❀ 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.

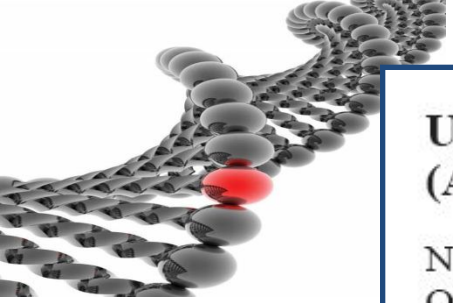
❀ Ключевые слова: филогеография; *Silene acaulis*; четвертичный период; AFLP; рефугиум; послеледниковая колонизация; арктоальпийская флора.

## *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 хпДНК, ITS и AFLP показана очень сложная генетическая структура, которая объясняется быстрым распространением из ряда рефугиумов с формированием нескольких контактных зон



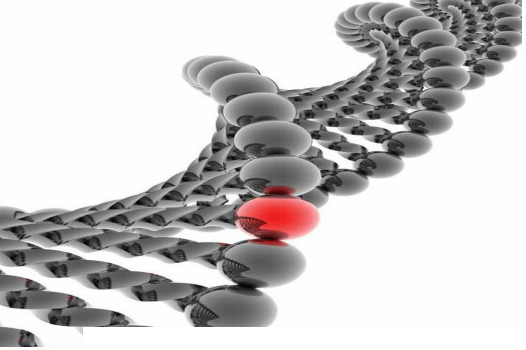
# Using Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLP) to Identify Black Cohosh (*Actaea racemosa*)[1]

Nyree J. C. Zerega, Scott Mori, Charlotte Lindqvist, Qunyi Zheng, and Timothy J. Motley

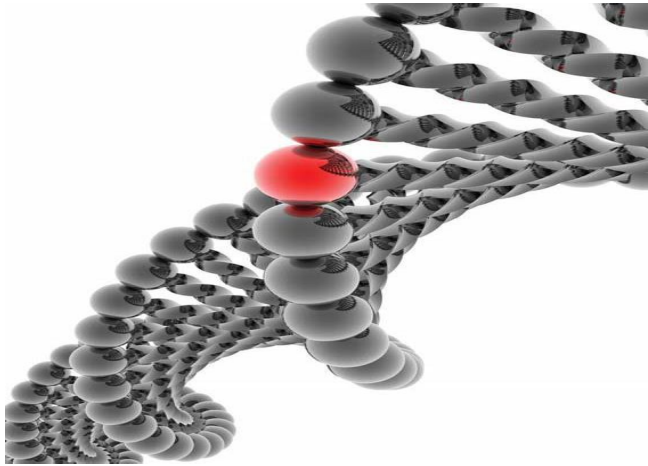
**Zerega, Nyree J. C., Scott Mori** *(New York Botanical Garden, Bronx, NY 10458, USA),* **Charlotte Lindqvist** *(Norwegian Forest Research Institute N-1432 As, Norway),* **Qunyi Zheng** *(Pure World Botanicals, Inc., South Hackensack, NJ, USA), and* **Timothy J. Motley** *(New York Botanical Garden, 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.*

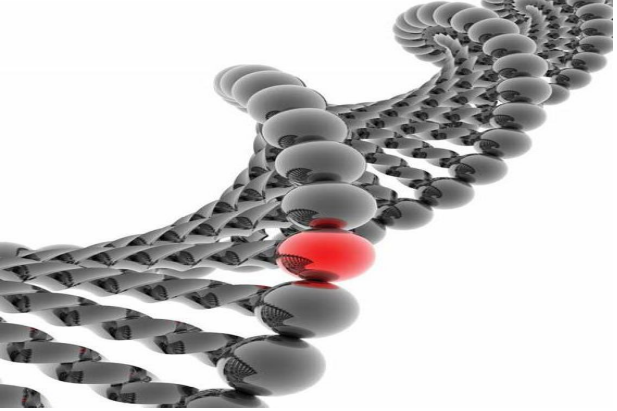
Die Verwendung von AFLP-Mustern zur Identifikation von Black Cohosh (*Actaea racemosa*). *Das Rhizom von* Actaea racemosa L., *allgemein als 'black cohosh' bezeichnet, ist eine beliebte pflanzliche Diätsergänzung, die für weibliche Gesundheitsprobleme benützt wird. Oft sind die in 'black cohosh'-Produkten 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 zuunterscheiden. 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.*

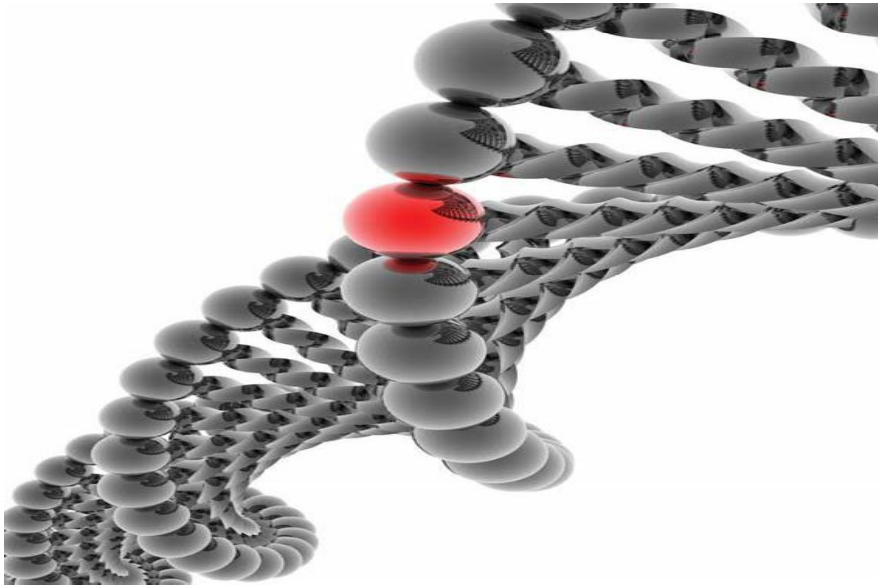


Таким образом, в настоящее время молекулярные маркеры активно используются для решения различных вопросов, связанных с определением видовой принадлежности, выяснения степени родства различных групп организмов, их генетического полиморфизма и филогеографии, а также в практических целях для обнаружения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