

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ КОЛЛЕКЦИИ АМАРАНТА (*AMARANTHUS L.*) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ RAPD-АНАЛИЗА



При помощи RAPD-анализа изучена генетическая изменчивость коллекции амаранта. Отмечен высокий уровень полиморфности изучаемых образцов, который в среднем составил 85 %. С использованием некоторых праймеров детектированы уникальные фрагменты, характерные только для определенных образцов, а также 18 мономорфных локусов, свойственных всем образцам амаранта. Рассчитаны генетические дистанции Nei и Ли. Этот показатель варьировал в пределах от 0,0009 до 0,0141. Проведен кластерный анализ, по результатам которого образцы амаранта были распределены в два кластера в соответствии с видовой принадлежностью.

© С.В. ЛИМАНСКАЯ, 2012

Введение. Амарант (*Amaranthus L.*) – перспективная зерновая, кормовая, овощная и декоративная культура. Различные виды рода *Amaranthus L.* (на сегодня их известно более 60) могут быть использованы в селекции амаранта как доноры хозяйственно ценных генов. Так, например, вид *A. caudatus* может быть донором холодоустойчивости, *A. cruentus* и *A. hybridus* – донорами скороспелости, солестойкости, холодоустойчивости и высокого содержания белка, а *A. hypochondriacus* – соле-, холодоустойчивости. Кроме того, гибриды с последним видом характеризуются высокой комбинативной способностью [1]. Указанные виды амаранта также представляют наибольший интерес в создании сортов зернового направления. Вовлечение различных генотипов в селекционно-генетические программы создает необходимость детального изучения генетики этой культуры. Использование традиционных методов селекции (гибридизация, полиплоидия и др.) для амаранта усложнено смешанной системой опыления и чрезвычайно мелкими размерами генеративного аппарата. Поэтому актуальным является привлечение методов, которые позволят быстро и надежно выявлять генотипы с хозяйственно ценными признаками, изучать популяционные процессы, устанавливать филогенетические взаимоотношения между различными видами рода *Amaranthus L.*, а также контролировать включение определенных генов в новый селекционный материал.

Одним из подходов, позволяющих решать поставленные задачи, является применение различных ДНК-маркеров, основанных на ПЦР (RAPD, SSR, ISSR, AFLP и др.) [2, 3]. Среди них RAPD-анализ при некоторых недостатках (чувствительность к условиям реакции, недостаточная специфичность, доминантная природа и низкое число аллельных вариантов) обладает рядом преимуществ перед другими маркерными системами: быстрота и простота метода, использование произвольных десятинуклеотидных праймеров, что существенно уменьшает себестоимость анализов; одни и те же праймеры можно использовать для разных видов и родов живых организмов [4]. Кроме того, RAPD-метод позволяет анализировать сразу несколько локусов, что довольно выгодно и удобно при изучении генетической структуры популяций,

выявлении родственных взаимосвязей между видами [5]. Обнаруженные уникальные RAPD-фрагменты также можно использовать для разработки более специфичных SCAR-маркеров, что с успехом было реализовано для рода *Amaranthus* L. [6].

Изучению генетического разнообразия и филогенетических отношений между дикими и культурными видами амаранта методом RAPD-анализа посвящены работы [6–11], в которых упомянутый метод использован для определения внутри- и межвидовой генетической изменчивости, а также для изучения происхождения культуры. Авторы указанных работ отмечают высокий уровень генетического сходства зерновых видов амаранта — *A. caudatus*, *A. cruentus*, *A. hybridus*, *A. hypochondriacus*. Stefunova [10] на основе результатов RAPD- и ISSR-анализов подчеркивает высокий уровень внутривидового полиморфизма перечисленных видов.

Однако следует отметить, что на сегодня данных по генетике амаранта все еще недостаточно. К настоящему времени построена единственная генетическая карта амаранта с использованием SSR-локусов [12]. В силу противоречивости данных [6, 9, 13] остается

открытым вопрос родственных взаимоотношений между зерновыми видами амаранта и их предполагаемыми предшественниками. Существуют определенные расхождения в систематике культуры [1, 9]. Не изученными в генетическом аспекте остаются сорта украинской селекции, поскольку в Украине подобные исследования для амаранта не проводятся вовсе. Таким образом, настоящая работа представляет интерес для дополнения знаний по генетике и филогенезу амаранта, а также для ускорения и облегчения селекционного процесса культуры.

Цель работы — изучение генетической изменчивости коллекции амаранта посредством RAPD-анализа, определение расстояний Неи и Ли, а также оценка генетических взаимоотношений между образцами амаранта, принадлежащими к пяти разным видам.

Материалы и методы. В работу вовлечены 9 сортов и 9 образцов амаранта разного эколого-географического происхождения, отнесенные к пяти видам (*A. caudatus* L., *A. cruentus* L., *A. hybridus* L., *A. hypochondriacus* L., *A. mantegazzianus* Passer.) (табл. 1). Видовая принадлежность сорта Кормовой К-22 (Индия) не известна. Выбор образцов связан с

Таблица 1

Изучаемые сорта и популяции амаранта

№ каталога	Вид	Сорт	Происхождение
К-61	<i>A. hypochondriacus</i> L.	—	США
00110	<i>A. hybridus</i> L.	—	»
00038	<i>A. hybridus</i> L.	—	»
К-146	<i>A. caudatus</i> L.	—	Германия
00039	<i>A. hybridus</i> L.	—	»
00050	<i>A. hypochondriacus</i> L.	—	»
USD00001	<i>A. cruentus</i> L.	Багряный	Россия
00087	<i>A. caudatus</i> L.	—	»
К-22	Неизвестно	Кормовой	Индия
0079	<i>A. hybridus</i> L.	—	»
00097	<i>A. hybridus</i> L.	—	»
00005	<i>A. cruentus</i> L.	Кармен	Украина
—	<i>A. hypochondriacus</i> L.	Студенческий	»
—	<i>A. mantegazzianus</i> P.	Вогняна кулька	»
—	<i>A. hybridus</i> L.	Ультра	»
—	<i>A. caudatus</i> L.	Роганский	»
—	<i>A. hypochondriacus</i> L.	Лера	»
—	<i>A. hypochondriacus</i> L.	Харьковский-1	»

вовлечением их в работу по созданию исходного селекционного материала амаранта, адаптированного к условиям Левобережной Лесостепи Украины.

ДНК выделяли цетавлонным методом [14] из смеси 6–10 зрелых семян амаранта каждого образца. Полученную ДНК проверяли в 1%-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Концентрацию ДНК определяли при помощи спектрофотометра Shimadzu UVmini1240.

Аmplификацию проводили с использованием наборов для ПЦР GenePak™ PCR Core с добавлением 20 нг геномной ДНК, 0,2 мкМ соответствующего праймера, а затем объем реакционной смеси доводили растворителем до 20 мкл. В работе использовали 10 праймеров, из которых четыре (P-28, P-37, P-39, P-52) разработаны авторами [14] и шесть (OPF-10, OPA-11, OPP-10, OPW-04, OPW-06, OPW-10) – фирмой «Operon Technologies», США (табл. 2).

Аmplификацию осуществляли на четырехканальном программируемом термостате ТП4-ПЦР-01-«Терцик» при таких условиях: 1 цикл – денатурация при 94 °С – 5 мин; 45 циклов: 94 °С – 1 мин, отжиг – 36 °С – 1 мин, элонгация – 72 °С – 2 мин; 1 цикл – финальная элонгация, 72 °С – 7 мин. Разделение продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 2%-ном агарозном геле в присутствии бромистого эти-

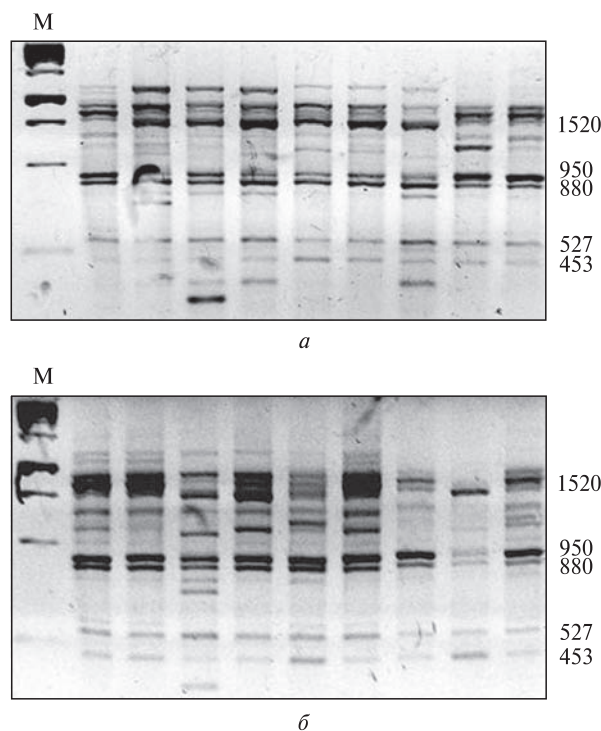


Рис. 1. Электрофореграмма RAPD-спектров коллекции амаранта, полученная при использовании праймера OPW-10: М – 1 kb DNA leader; а – слева направо образцы Ультра, Лера, Харьковский-1, Студенческий, Роганский, Вогняна кулька, Кармен, 00087, Багряный; б – слева направо образцы 00038, 00110, К-61, К-146, 00050, 00039, 00097, К-22, 00079. Стрелками обозначены мономорфные компоненты, цифрами – их длина (пар нуклеотидов)

Таблица 2

Полиморфизм, выявленный при RAPD-анализе

Праймер	Нуклеотидная последовательность 5'-3'	Количество локусов, шт.	Полиморфизм, %	Образец, размер уникальных фрагментов	Размер фрагментов ДНК, min-max
				п.н.	
OPF-10	GGAAGCTTGG	19	79	–	420–1859
OPA-11	CAATCGCCGT	10	80	00039 – 269, Лера – 155	155–504
OPP-10	TCCCGCCTAC	6	83	–	234–510
OPW-04	CAGAAGCGGA	17	100	Кармен – 1560, 00087 – 913	370–2335
OPW-06	AGGCCCGATG	13	77	Лера – 489	277–2216
OPW-10	TCGCATCCCT	17	71	Харьковский-1 – 346	346–2140
P-28	CAAACGTCCGG	6	100	–	110–450
P-37	CTGACCAGCC	15	100	Кармен – 325	325–2500
P-39	CCAGTTCGCC	10	80	–	184–535
P-52	AGGACTGGAC	5	80	–	232–507

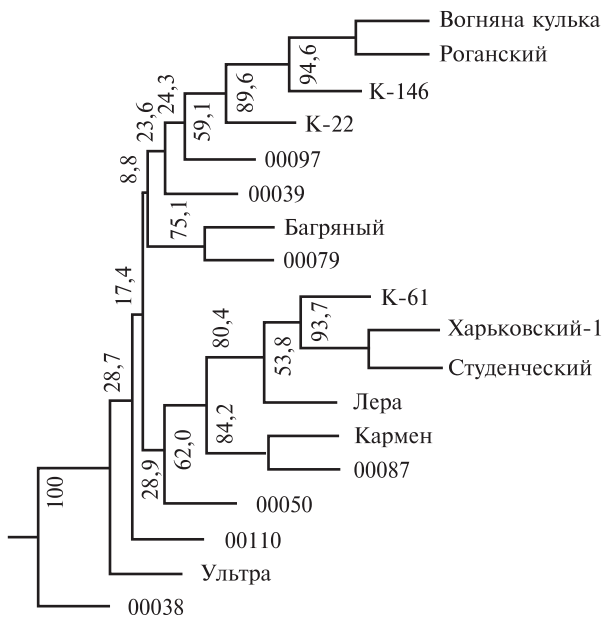


Рис. 2. Дендрограмма филогенетических взаимоотношений между изучаемыми сортами и популяциями амаранта по результатам RAPD-анализа. Возле ветвей дерева указаны значения бутстреп-оценки, %

дия. В качестве электродного и буфера геля использовали Трис-ЭДТА-боратную буферную систему – 0,09 М Трис, 0,09 М H_3BO_3 ,

0,0031 М ЭДТА (pH 8,3). Визуализацию спектров осуществляли при помощи трансиллюминатора ТСП-20 МС с последующим фотографированием гелей. В качестве маркеров для определения размеров амплифицированных фрагментов использовали 1 kb DNA leader и pUC19/MspI.

Вычисление молекулярной массы продуктов амплификации проводили при помощи программного пакета «TotalLab TL120».

По результатам анализа были составлены бинарные матрицы, в которых отмечалось «присутствие» (1) или «отсутствие» (0) фрагментов с одинаковой молекулярной массой на электрофореграмме. Каждый RAPD-компонент рассматривали как отдельный генетический локус. Уровень полиморфизма по каждому праймеру определяли частью полиморфных локусов, выраженной в процентах, от общего количества локусов на праймер. Анализ генетического разнообразия проводили посредством вычисления генетических расстояний по Неи и Ли [15]. Кластеризацию и построение дендрограммы, демонстрирующей филогенетические отношения между изученными образцами амаранта, осуществляли методом ближайших соседей (Neighbor-join-

Матрица генетических расстояний между

Образец амаранта	Ультра	Лера	Харьковский-1	Студенческий	Роганский	Вогняна кулька	Кармен
Ультра	0,0000						
Лера	0,0051	0,0000					
Харьковский-1	0,0071	0,0077	0,0000				
Студенческий	0,0049	0,0029	0,0080	0,0000			
Роганский	0,0064	0,0053	0,0127	0,0058	0,0000		
Вогняна кулька	0,0064	0,0067	0,0117	0,0083	0,0025	0,0000	
Кармен	0,0086	0,0054	0,0103	0,0055	0,0090	0,0119	0,0000
00087	0,0056	0,0075	0,0100	0,0078	0,0097	0,0097	0,0055
Багряный	0,0027	0,0056	0,0080	0,0068	0,0074	0,0079	0,0087
00038	0,0017	0,0047	0,0081	0,0051	0,0058	0,0058	0,0080
00110	0,0022	0,0047	0,0086	0,0054	0,0058	0,0058	0,0084
К-61	0,0059	0,0027	0,0084	0,0029	0,0070	0,0088	0,0066
К-146	0,0067	0,0055	0,0103	0,0064	0,0037	0,0040	0,0097
00050	0,0048	0,0068	0,0104	0,0080	0,0089	0,0084	0,0088
00039	0,0031	0,0052	0,0076	0,0061	0,0057	0,0057	0,0092
00097	0,0068	0,0090	0,0141	0,0090	0,0089	0,0083	0,0138
К-22	0,0070	0,0061	0,0132	0,0067	0,0059	0,0063	0,0098
00079	0,0035	0,0064	0,0077	0,0074	0,0071	0,0062	0,0103

ning, NJ) при помощи пакета программ Phyliр-3.69. Достоверность полученного дерева филогенетических взаимоотношений проверяли с помощью бутстреп-анализа с использованием программы Phyliр-3.69.

Результаты исследований и их обсуждение. Изучали генетическое разнообразие 18 образцов амаранта, отнесенных к пяти видам и имеющих разное эколого-географическое происхождение (Украина, Россия, США, Индия, Германия). При помощи RAPD-анализа установили полиморфизм изучаемых сортов и популяций, который в среднем составил 85%. Максимальный уровень полиморфизма – 100 % (полиморфизм по всем локусам) – отмечен при использовании праймеров OPW-04, P-28 и P-37. Минимальный уровень получен при использовании праймера OPW-10 и составил 71 %. В целом идентифицировали 118 локусов, из которых 100 оказались полиморфными. При этом амплифицировалось от 5 до 19 фрагментов на праймер. Молекулярная масса выявленных фрагментов для разных праймеров варьировала в пределах ~110–2500 п.н. Для некоторых образцов идентифицированы уникальные, присущие только им фрагменты (табл. 2). Эти участки ДНК могут

служить маркерами конкретного образца. При использовании некоторых праймеров также детектировано наличие от 1 до 5 мономорфных локусов, присущих всем образцам (рис. 1). В частности для праймера OPF-10 обнаружены мономорфные фрагменты размером ~ 970, 750, 725 и 637 п.н.; для OPA-11 – 350 и 214 п.н.; для OPP-10 – 332 п.н.; OPW-06 – 995, 825 и 277 п.н.; для OPW-10 – 1520, 950, 880, 527 и 453 п.н.; для P-39 – 450 и 345 п.н. и для P-52 – фрагмент размером ~ 326 п.н. При мономорфности перечисленных фрагментов и у других, не вовлеченных в настоящее исследование видов амаранта, эти локусы можно будет использовать как маркеры рода *Amaranthus L.* в целом.

По результатам обработки данных рассчитали генетические расстояния Неи и Ли. Для вовлеченных в исследование образцов амаранта этот показатель варьировал в пределах от 0,0009 до 0,0141 (табл. 3). На основании матрицы генетических дистанций построили дерево филогенетических взаимоотношений между изучаемыми образцами (рис. 2).

Кластеризацию проводили методом ближайших соседей. Нами выделены два основных кластера: в первый вошли почти все

Таблица 3

вовлеченными в исследование образцами амаранта

00087	Багряный	00038	00011	К-61	К-146	00050	00039	00097	К-22	00079
0,0000										
0,0061	0,0000									
0,0067	0,0030	0,0000								
0,0071	0,0032	0,0009	0,0000							
0,0097	0,0057	0,0048	0,0044	0,0000						
0,0104	0,0073	0,0046	0,0042	0,0057	0,0000					
0,0068	0,0054	0,0036	0,0039	0,0063	0,0067	0,0000				
0,0070	0,0039	0,0015	0,0014	0,0053	0,0041	0,0042	0,0000			
0,0106	0,0065	0,0053	0,0048	0,0090	0,0086	0,0085	0,0047	0,0000		
0,0089	0,0067	0,0051	0,0047	0,0063	0,0041	0,0075	0,0042	0,0062	0,0000	
0,0067	0,0018	0,0031	0,0031	0,0062	0,0058	0,0055	0,0024	0,0053	0,0055	0,0000

образцы, отнесенные к *A. hybridus*, во второй — принадлежащие к виду *A. hypochondriacus*. Образцы видов *A. caudatus* и *A. cruentus* представлены в обоих кластерах (рис. 2).

Таким образом, в первом кластере оказались сорта Роганский и Вогняна кулька (Украина), Багряный (Россия), популяции 00079, К-22, 00097 (Индия), 00039, К-146 (Германия). Сорта Роганский и Вогняна кулька в пределах первого кластера расположены на одной ветви филогенетического дерева (рис. 2). Приведенные образцы являются спонтанными гибридами между *A. caudatus* и *A. mantegazzianus* (Т.И. Гопций, устное сообщение). При этом сорт Роганский отнесен к *A. caudatus* L., а сорт Вогняна кулька — к виду *A. mantegazzianus* Passer. Следует отметить некоторое фенотипическое сходство упомянутых сортов (светлая метелка, желто-зеленый стебель, белые стекловидные семена). Таким образом, на основании полученных результатов можно допустить участие одних и тех же исходных форм в создании этих сортов. Кроме того, виды *A. mantegazzianus* и *A. caudatus* некоторые авторы отождествляют [1]. Далее наименьшим генетическим расстоянием по отношению к указанным образцам характеризовалась популяция К-146 (*A. caudatus*). Затем по мере увеличения генетических дистанций расположились популяции К-22 (видовая принадлежность не известна), 00097, 00039 (*A. hybridus*) (рис. 2). Бутстреп-поддержка указанных узлов составила 94,6; 89,6; 59,1; 24,3 % соответственно. На основании полученного филогенетического дерева можно предположить, что образец К-22 относится к одному из видов — *A. caudatus* или *A. hybridus*. Для доказательства этого утверждения необходимо проведение дополнительных анализов с привлечением других ДНК-маркеров.

Во втором кластере расположены сорта украинской селекции Лера, Студенческий, Харьковский-1, а также популяции К-61 (США) и 00050 (Германия), которые относятся к виду *A. hypochondriacus* (рис. 2), причем наиболее генетически близкими оказались образцы Студенческий, Харьковский-1, К-61 и Лера, что подтверждает их происхождение из популяций, интродуцированных из США (табл. 1)

[16]. Бутстреп-анализ узлов в этом блоке показал уровень достоверности 93,7- и 53,8 % соответственно. Наиболее генетически отдаленным в пределах этого кластера был образец 00050 (бутстреп-оценка — 62,0 %), что, вероятно, вызвано его принадлежностью к другой эколого-географической группе.

В обоих кластерах отмечены по два образца (в первом кластере — 00079 и Багряный, во втором — Кармен и 00087), которые, несмотря на разную видовую и эколого-географическую принадлежность, характеризовались высоким уровнем генетического сходства и на филогенетическом дереве в пределах «своего» кластера расположены на одной ветви (рис. 2). По результатам бутстреп-анализа достоверность данных узлов составила 75,1 и 84,2 % соответственно. Родословные упомянутых образцов не известны, поэтому объяснить их генетическое подобие на основании результатов проведенного исследования достаточно сложно.

Ни в один кластер не вошли популяции 00110 и 00038 (США), а также сорт Ультра (Украина) (бутстреп-поддержка составила 28,9; 100; 28,7 % соответственно). Они принадлежат к виду *A. hybridus*. Сорт Ультра получен из сорта Белосемянный (*A. hybridus*) методом химического мутагенеза [16], что, вероятно, и является причиной его обособленности по отношению к другим образцам вида *A. hybridus*. Родословная образцов 00110 и 00038 отсутствует. Поэтому мы можем лишь допустить, что удаленность 00038 и 00110 от других образцов этого вида может свидетельствовать об особенностях интродукции *A. hybridus* в разные эколого-географические зоны (США → Германия → Индия).

Полученное нами филогенетическое дерево может служить подтверждением генетической близости четырех видов амаранта (*A. caudatus*, *A. cruentus*, *A. hybridus*, *A. hypochondriacus*), что было отмечено ранее в работах [6–12].

Sauer [17, 18] еще в 1967–1976 гг. предложил два альтернативных пути образования зерновых видов амаранта. Становление видов *A. cruentus*, *A. caudatus* и *A. hypochondriacus* согласно полифилетической гипотезе происходило независимо друг от друга в разных географических регионах (Центральная Аме-

рика, Южная Америка и Мексика соответственно) с участием разных предковых форм (*A. hybridus*, *A. quitensis* и *A. powellii* соответственно). Монофилетическая гипотеза постулирует процесс первичной доместикации *A. cruentus* от *A. hybridus* в Центральной Америке. Появление двух других видов (*A. caudatus* и *A. hypochondriacus*) автор связывает с многократным переопылением: *A. cruentus* и *A. quitensis* — на юге, *A. cruentus* и *A. powellii* — на севере. Таким образом, *A. hybridus*, очевидно, является предшественником всех трех зерновых видов амаранта. В дальнейшем разные группы ученых получали противоречивые результаты [7, 19–22], подтверждающие одну из двух гипотез. Большинство авторов, изучавших родственные взаимосвязи зерновых и диких видов амаранта при помощи ДНК-маркеров [6–13], склоняются к справедливости монофилетической теории с некоторыми уточнениями. Например, Ranade et al. [9] утверждают, что *A. caudatus* и *A. hypochondriacus* генетически более близки друг к другу, чем каждый из них по отношению к *A. cruentus*. Это ставит под сомнение участие последнего (согласно монофилетической гипотезе) в образовании упомянутых видов.

Результаты нашей работы также говорят в пользу монофилетической гипотезы происхождения зерновых амарантов. Однако выделение образцов вида *A. hypochondriacus* в обособленную группу, очевидно, свидетельствует о том, что *A. hybridus* и *A. hypochondriacus* генетически более далеки друг от друга, чем эти же виды по отношению к *A. caudatus* и *A. cruentus*. Наши выводы согласуются с данными работы Xu et al. [13], по результатам которой один из предшественников (*A. powellii*), участвовавших в образовании *A. hypochondriacus*, является наиболее генетически обособленным в комплексе группы *A. hybridus* (*A. quitensis*, *A. hybridus*, *A. powellii*, *A. caudatus*, *A. cruentus*, *A. hypochondriacus*). Этим, вероятно, и объясняется выделение образцов вида *A. hypochondriacus* в отдельный кластер на полученном нами филогенетическом дереве.

Распределение в разные кластеры образцов, относящихся к *A. caudatus* и *A. cruentus*, может свидетельствовать о сходстве процес-

сов становления этих видов. Такое предположение подтверждает мнение Ray et al. [6] относительно особой генетической близости упомянутых таксономических единиц в группе зерновых амарантов.

Таким образом, при помощи RAPD-анализа нами выявлен высокий уровень полиморфизма изучаемых образцов амаранта, установлены взаимосвязи между ними. Обнаружены специфические геномные последовательности, которые можно использовать как генетические маркеры определенных образцов и рода *Amaranthus L.* в целом, что является крайне важным при идентификации растительного материала с целью дальнейшего его использования в различных селекционно-генетических программах. Уникальные фрагменты, выявленные нами при помощи RAPD-технологии, могут быть секвенированы и использованы для разработки SCAR-маркеров. Полученные данные также позволяют дополнить информацию по генетике амаранта.

S.V. Lymanska

ESTIMATION OF THE GENETIC VARIABILITY OF AMARANTH COLLECTION (*AMARANTHUS L.*) WITH RAPD-ANALYSIS

Genetic variability of amaranth collection was studied with RAPD-analysis. A high level of polymorphism of studied accessions was determined and amounted 85 % in mean. The unique bands characteristic only for the definite accessions, and 18 monomorphic loci proper for all amaranth accessions were detected with some primers. The genetic distances of Nei and Li were calculated. This index varied from 0,0009 to 0,0141. Cluster analysis was carried out. The amaranth accessions were classified into 2 clusters conformity with species belonging.

С.В. Лиманська

ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ КОЛЕКЦІЇ АМАРАНТУ (*AMARANTHUS L.*) З ВИКОРИСТАННЯМ RAPD-АНАЛІЗУ

За допомогою RAPD-аналізу вивчено генетичну мінливість колекції амаранту. Зазначено високий рівень поліморфності досліджених зразків, який в середньому становив 85 %. З використанням деяких праймерів детектовано унікальні фрагменти, характерні лише певним зразкам, а також 18 мономорфних локусів, притаманних всім зразкам амаранту. Розраховано генетичні відстані Нея та Лі.

Цей показник варіював в межах від 0,0009 до 0,0141. Проведено кластерний аналіз, за результатами якого зразки амаранту було розподілено в два кластери відповідно до видової приналежності.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гонцій Т.І. Амарант: біологія, вирощування, перспективи використання, селекція. – Харків, 1999. – 273 с.
2. Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. Полиморфізм ДНК в популяційній генетиці // Генетика. – 2002. – 38, № 9. – С. 1173–1195.
3. Календарь Р.Н., Глазко В.И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // Физиология и биохимия культур. растений. – 2002. – 34, № 4. – С. 279–295.
4. Мальшев С.В., Картель Н.А. Молекулярные маркеры в генетическом картировании растений // Молекуляр. биология. – 1997. – 31, № 2. – С. 197–208.
5. Кочиева Е.З. Использование методов на основании полимеразной цепной реакции для анализа и маркирования растительного генома // С.-х. биология. – 1999. – № 3. – С. 3–14.
6. Ray T., Roy S.C. Genetic diversity of *Amaranthus* species from the Indo-Gangetic plains revealed by RAPD analysis leading to the development of ecotype-specific SCAR marker // J. Hered. – 2009. – 100, № 3. – P. 338–347.
7. Chan K.F., Sun M. Genetic diversity and relationships detected by isozyme and RAPD analysis of crop and wild species of *Amaranthus* // Theor. Appl. Genet. – 1997. – 95, № 5/6. – P. 865–873.
8. Mandal N., Das P.K. Intra- and interspecific genetic diversity in grain amaranthus using random amplified polymorphic DNA markers // Plant Tissue Culture. – 2002. – 12, № 1. – P. 49–56.
9. Ranade S.A., Kumar A., Goswami M., Farooqui N., Sane P.V. Genome analysis of amaranth : Determination of inter- and intra-species variation // J. Biosci. – 1997. – 22, № 4. – P. 457–464.
10. Stefunova I.V. Geneticka analiza laskavca (*Amaranthus* L.) DNA markermi : Autoref. diz. 15-03-9 genetika. – Nitra, 2008. – 20 p.
11. Faseela K.V., Salikutty J. Molecular characterization of amaranthus landraces and assessment of interspecific relationships among *Amaranthus* spp. L. using RAPD markers // Indian J. Genet. – 2007. – 67, № 1. – P. 12–17.
12. Mallory M.A., Hall R.V., McNabb A.R., Pratt D.B., Jellen E.N., Maughan P.J. Development and characterization of microsatellite markers for the grain amaranths // Crop Sci. – 2008. – 48, № 3. – P. 1098–1106.
13. Xu F., Sun M. Comparative analysis of phylogenetic relationships of grain amaranths and their wild relatives (*Amaranthus*; Amaranthaceae) using Internal Transcribed Spacer, Amplified Fragment Length Polymorphism, and Double-Primer Fluorescent Intersimple Sequence Repeat Markers // Mol. Phylogen. Evol. – 2001. – 21, № 3. – P. 372–387.
14. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях : Науч.-метод. руководство / Под ред. Ю.М. Сиволапа. – К.: Аграр. наука, 1998. – 156 с.
15. Nei M., Li W.-H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1979. – 76, № 10. – P. 5269–5273.
16. Goptsiy T., Voroncov N., Popov V., Zhyravel D., Gromenko S. Grain varieties of amaranth developed by selection at Kharkiv national agrarian university and the perspectives of their use // Amaranth – Plant of the Future : 5th Int. Symp. of the Duporean Amaranth Association. – Nitra, 2008. – P. 97–100.
17. Sauer J.D. The grain Amaranths and its relatives: a revised taxonomic and geographic survey // Ann. Missouri Bot. Gard. – 1967. – 54. – P. 102–137.
18. Sauer J.D. Grain amaranth // Evolution of crop plants / Ed. N.W. Simmonds. – London : Longman Group Ltd., 1976. – P. 4–7.
19. Greizerstein E.I., Poggio L. Karyological studies in grain amaranthus // Cytologia. – 1994. – 59, № 1. – P. 25–30.
20. Kulakow P.A., Hauptli H., Jain S.K. Genetics of grain amaranths. I. Mendelian analysis of six color characteristics // J. Hered. – 1985. – 76, № 1. – P. 27–30.
21. Hauptli H., Jain S.B. Genetic structure of landrace populations of the New World grain amaranths // Euphytica. – 1984. – 33, № 3. – P. 875–884.
22. Lanoue K.Z., Wolf P.G., Browning S., Hood E.E. Phylogenetic analysis of restriction-site variation in wild and cultivated *Amaranthus* species (Amaranthaceae) // Theor. Appl. Genet. – 1996. – 93. – P. 722–732.

Поступила 20.02.11