

## ISSR АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ УЗКОЛИСТНЫХ ОВСЯНИЦ

И.А. БЕДНАРСКАЯ<sup>1</sup>, В.Н. ПОПОВ<sup>2</sup>, Ю.Н. ДУГАРЬ<sup>3</sup>, Г.Е. АКИНИНА<sup>2</sup>, Т.А. ДОЛГОВА<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт экологии Карпат НАН Украины, Львов

<sup>2</sup> Институт растениеводства им. В.Я. Юрьева, Харьков

E-mail: vnpor@mail.ru

<sup>3</sup> Харьковский национальный аграрный университет им. В.В. Докучаева

Изучали генетические взаимоотношения между популяциями различных видов узколистных овсяниц — *F. macutrensis*, *F. rupicola*, *F. arietina*, *F. valesiaca*, *F. pallens*, *F. psammophila* и *F. brevipila* с использованием ISSR анализа. Уровень полиморфизма ISSR локусов у овсяниц в среднем составил 92,9 %. Выявлен видоспецифичный ампликон для *F. valesiaca*, а также идентифицирован общий фрагмент для двух близкородственных видов — *F. pallens* и *F. psammophila*. На основании данных NJ анализа подтверждена дифференциация видов на такие крупные агрегаты, как *F. glauca* agg. и *F. valesiaca* agg. Показана также более четкая дифференциация видов в пределах *F. glauca* agg., тогда как для видов агрегата *F. valesiaca* agg. не удалось установить четкие закономерности генетических взаимоотношений между его представителями.

**Ключевые слова:** *F. valesiaca* agg., *F. glauca* agg., ISSR, полиморфизм.

**Введение.** Род *Festuca* является одним из самых крупных и самых сложных родов семейства *Poaceae*. Согласно последней общей сводке флоры Европы описано 170 видов овсяниц, однако вопрос объема рода и таксономического ранга многочисленных его представителей, особенно среди узколистных овсяниц, до сих пор является дискуссионным [1]. В первую очередь это связано с фрагментарностью самих исследований по филогении рода *Festuca*, проведенных с использованием различных методик.

Это не позволяет объективно оценить амплитуду изменчивости видов, выяснить ее причины, оценить дискретность видов, их дифференциацию в различных частях ареала произрастания видов. Так, в ходе ревизии рода *Festuca* во флоре Украины и Беларуси нами выявлены существенные расхождения между различными европейскими научными школами как в трактовке отдельных таксонов, так и по методическим подходам, что во многих случаях

сделало невозможным равноценное сравнение различных данных между собой [2, 3].

В современной систематике растений альтернативой традиционным методам сравнительной морфологии являются методы молекулярной генетики [4, 5]. И хотя в научном сообществе продолжается дискуссия между классическими систематиками и геносистематиками относительно понимания объемов и критериев видов, для разрешения спорных вопросов невозможно обойтись без комплексного подхода, который позволил бы критически пересмотреть спорные таксономические группы и филогенетические взаимоотношения между ними.

Молекулярно-генетические исследования рода *Festuca* в основном посвящены широколиственным видам овсяниц (например, *F. pratensis* Huds., *F. arundinacea* Schreb., *F. mairei* St. Yves) и их гибридам с видами рода *Lolium* L. [6–17]. Узколистные же виды овсяниц на сегодняшний день остаются малоизученными в силу сложности идентификации их классическими методами. Только незначительное число работ посвящено применению ДНК маркеров для установления филогенетических взаимоотношений между некоторыми представителями узколистных овсяниц [18–20].

Во флоре Украины представлено около 20 видов узколистных овсяниц, которые по основным диагностическим признакам анатомического строения листка можно разделить на четыре больших агрегата: *F. ovina* agg., *F. rubra* agg., *F. valesiaca* agg. и *F. glauca* agg. Последние два агрегата являются наиболее сложными в области систематики рода. В связи с этим целью нашей работы было изучение генетических взаимоотношений между популяциями видов узколистных овсяниц, принадлежащих *F. valesiaca* agg. и *F. glauca* agg.

**Материалы и методы.** Растительный материал. Для исследования были взяты 30 популяций различных перекрестноопыляемых видов

рода *Festuca* (табл. 1), которые принадлежат двум видовым агрегатам: *F. valesiaca* agg. (*F. macutrensis* Zapal., *F. rupicola* Heuff., *F. arietina* Klok., *F. valesiaca* Schleich. ex Gaud.) и *F. glauca* agg. (*F. pallens*, *F. psammophila*). Каждый из агрегатов по возможности был представлен максимальным количеством видов, которые репрезентуют различные регионы Украины и частично Беларуси. В исследовании также использовали *F. brevipila* Tracey (синоним *F. trachyphylla* (Hack.) Krajina), занимающий промежуточное положение между упомянутыми агрегатами. Предварительное изучение и идентификация по-

пуляций видов рода *Festuca* проведены методами сравнительной морфологии и анатомии [2].

**Выделение ДНК и проведение ПЦР.** ДНК выделяли из смеси 15 семян СТАБ-методом [21]. Для проведения ПЦР использовали 11 праймеров с закоренными нуклеотидами на 3'-конце к микросателлитным последовательностям (табл. 2).

Аmplификацию ДНК проводили в пробирках с лиофилизированным набором реактивов для ПЦР (GenePak PCR core) в амплификаторе «Терцик» (Россия). Конечный объем реакционной смеси составил 20 мкл и содержал 20 нг

Таблица 1. Представители рода *Festuca* L., использованные в исследовании

№ п/п	LWKS	Вид	Географический регион
1	7962	<i>F. macutrensis</i>	Львовская обл., Золочевский р-н, с. Красне
2	1В-1166	<i>F. macutrensis</i>	Львовская обл., Бродовский р-н, с. Суховоля
3	1В-670	<i>F. macutrensis</i>	Житомирская обл., Житомирский р-н, с. Сингуры
4	1В-763	<i>F. macutrensis</i>	Житомирская обл., Коростышевский р-н, с. Большие Кошарища
5	1В-246	<i>F. macutrensis</i>	Тернопольская обл., Бережанский р-н, восточная окраина с. Гутиско
6	1В-1157	<i>F. rupicola</i>	Львовская обл., Пустомытовский р-н, юго-восточные окраины с. Подтемное
7	1В-188	<i>F. rupicola</i>	Ивано-Франковская обл., Галицкий р-н, окр. с. Межигорцы
8	7107	<i>F. rupicola</i>	Тернопольская обл., Боршевский р-н, окр. с. Синьков
9	1В-1460	<i>F. arietina</i>	Черкасская обл., Каневский р-н, с. Леплява
10	1В-1461	<i>F. arietina</i>	Черкасская обл., Каневский р-н, с. Леплява
11	1В-1444	<i>F. arietina</i>	Беларусь. Гомельская обл., Ветковский р-н, окр. с. Новоселки
12	1В-1506	<i>F. arietina</i>	Беларусь, Калинковичский р-н, с. Юровичи. Коренной берег р. Припять
13	8992	<i>F. rupicola</i>	Львовская обл., Золочевский р-н, окр. с. Липица
14	1В-243	<i>F. macutrensis</i>	Ивано-Франковская обл., Рогатинский р-н, с. Яглуш
15	8896а	<i>F. macutrensis</i>	Ивано-Франковская обл., Галицкий р-н, окр. с. Подолье
16	8492а	<i>F. macutrensis</i>	Тернопольская обл., г. Кременец
17	1В-369	<i>F. valesiaca</i>	Тернопольская обл., Подволочиский р-н, с. Галушинцы
18	1В-370	<i>F. rupicola</i>	Тернопольская обл., Подволочиский р-н, с. Галушинцы
19	1В-367	<i>F. rupicola</i>	Тернопольская обл., Залещицкий р-н, с. Устечко
20	1В-928	<i>F. valesiaca</i>	Донецкая обл., Володарский р-н, с. Назаровка
21	1В-965	<i>F. valesiaca</i>	Донецкая обл., Володарский р-н, окр. с. Старченково
22	1В-927	<i>F. valesiaca</i>	Донецкая обл., Володарский р-н, с. Назаровка
23	1В-896	<i>F. pallens</i>	Тернопольская обл., Кременецкий р-н, г. Кременец
24	08492	<i>F. pallens</i>	Тернопольская обл., Кременецкий р-н, окр. г. Кременец
25	1В-1167	<i>F. pallens</i>	Тернопольская обл., Кременецкий р-н, с. Куликов
26	08484	<i>F. psammophila</i>	Львовская обл., Яворовский р-н, с. Страдч
27	1В-1479	<i>F. psammophila</i>	Беларусь; Гродненская обл., предместье г. Гродно, д. Пышки
28	1В-1465	<i>F. psammophila</i>	Беларусь; Брестская обл., Малоритский р-н, 10 км на юго-восток от с. Томашовка
29	1В-1164	<i>F. psammophila</i>	Львовская обл., Золочевский р-н, северо-западная окраина с. Хмелевая
30	8459	<i>F. brevipila</i>	Волынская обл., Турыйский р-н, окр. с. Овлочин

ДНК и 0,2 мкМ праймера. ПЦР осуществляли в следующем режиме: начальная денатурация – 4 мин при 94 °С; последующие 40 циклов с такими параметрами: денатурация – 45 с при 94 °С, отжиг праймера – 45 с при 52 °С, элонгация – 45 с при 72 °С; конечная элонгация – 7 мин при 72 °С.

Разделение продуктов амплификации проводили методом горизонтального электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Электродный буфер использовали с низкой ионной силой [22]. Визуализацию продуктов амплификации осуществляли при помощи трансиллюминатора TCP-20МС с последующим фотографированием гелей. В качестве маркера молекулярной массы для определения размеров амплифицированных фрагментов использовали 1 kb DNA ladder.

Молекулярную массу продуктов амплификации вычисляли при помощи демоверсии программного пакета «TotalLab TL120» (<http://www.totallab.com>).

**Статистическая обработка данных.** По результатам анализа на основе выявленных ампликонов с помощью 11 ISSR праймеров составили бинарную матрицу. В матрице присутствие ампликона обозначалось цифрой 1, отсутствие – 0. Каждую ISSR полосу рассматривали как отдельный генетический локус. Уровень полиморфизма определяли как соот-

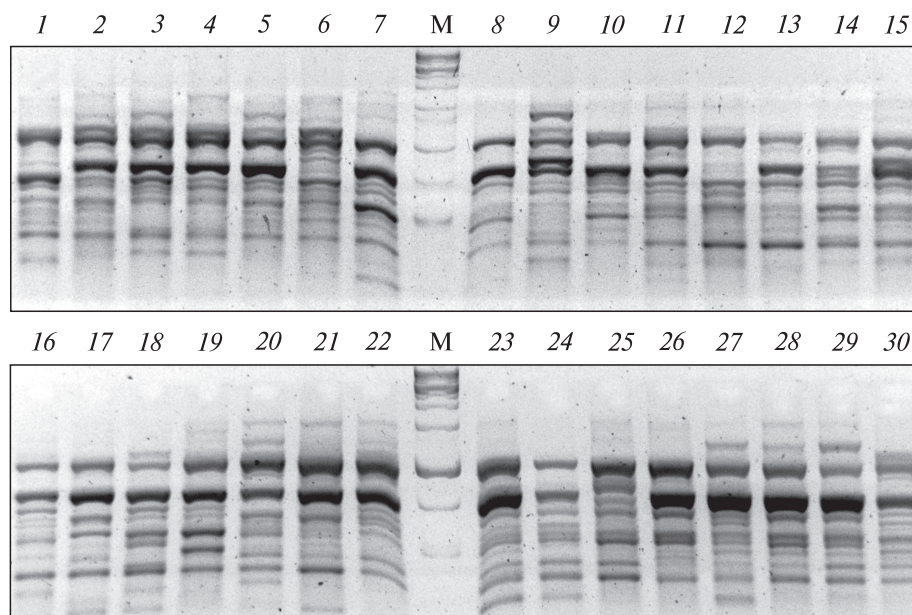
ношение полиморфных локусов к общему числу выявленных локусов, детектируемых с использованием каждого праймера, и выражали в процентах. Анализ генетического разнообразия осуществляли с помощью вычисления генетических расстояний по Nei и Li [23]. Для изучения генетических взаимоотношений между видами рода *Festuca* строили дендрограмму методом ближайших соседей (Neighbor-joining, NJ). Достоверность дендрограммы проверяли бутстреп-анализом при 1000 повторностях. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «PHYLIP-3.69».

**Результаты исследований и их обсуждение.** Для изучения молекулярно-генетического полиморфизма видов рода *Festuca* использовали 11 ISSR праймеров, состоящих из коротких тандемных динуклеотидных повторов, которые на 3'-конце имели 1–2 заякоренных нуклеотида (табл. 2). Каждый праймер ограничивает межмикросателлитные участки ДНК, и в результате амплификации геномной ДНК растений удается получать высокополиморфные и хорошо воспроизводимые ампликоны [24]. На рис. 1 представлен пример амплификации ДНК узколистных видов овсяниц с праймером ISSR 842.

Указанные в табл. 2 праймеры при амплификации с геномной ДНК изучаемых популяций видов рода *Festuca* выявляли разные коли-

Таблица 2. Характеристика праймеров и ISSR фрагментов

Праймер	Последовательность праймера	Общее количество фрагментов, шт.	Полиморфные фрагменты, шт.	Полморфизм, %	Размер фрагментов, п.н.
ISSR 4	(CT) <sub>8</sub> TG	20	19	95,0	402–2026
ISSR 5	(CA) <sub>8</sub> AC	13	9	69,2	344–1364
ISSR 807	(AG) <sub>8</sub> T	26	26	100,0	250–1502
ISSR 810	(GA) <sub>8</sub> T	13	12	92,3	240–1464
ISSR 812	(GA) <sub>8</sub> A	23	23	100,0	272–1590
ISSR 825	(AC) <sub>8</sub> T	13	12	92,3	350–1554
ISSR 826	(AC) <sub>8</sub> C	15	12	80,0	357–1166
ISSR 834	(AG) <sub>8</sub> CT	30	30	100,0	360–1900
ISSR 842	(GA) <sub>8</sub> TG	24	22	91,7	280–1547
ISSR 847	(CA) <sub>8</sub> AC	15	13	86,7	308–1110
ISSR 857	(AC) <sub>8</sub> CG	19	18	94,7	386–1360
Среднее		19,2	17,8	92,9	–
Всего		211	196	–	–



**Рис. 1.** Электрофоретические спектры ISSR фрагментов семи видов узколистных овсяниц (праймер ISSR 842): М – маркер молекулярной массы 1 kb ladder. 1–5, 14–16 – *F. macutrensis*; 6–8, 13, 18, 19 – *F. rupicola*; 17, 20–22 – *F. valesiaca*; 23–25 – *F. pallens*; 26–29 – *F. psammophila*; 30 – *F. brevipila*

чества ампликонов, которыми эти популяции отличались друг от друга. Количество амплифицируемых фрагментов ДНК варьировало от 13 до 30. Минимальное количество фрагментов идентифицировалось с использованием праймеров ISSR 5, ISSR 810 и ISSR 825, а максимальное – при амплификации ДНК с праймером ISSR 834. В среднем количество синтезированных ампликонов на один использованный праймер составило 19,2. Всего для отобранных популяций, представленных семью видами узколистных овсяниц, идентифицировано 211 четко воспроизводимых ампликонов. Размер ДНК фрагментов варьировал в широких пределах – от 240 до 2026 пн. Минимальный и максимальный размер продуктов детектировался с применением праймеров ISSR 810 и ISSR 4 соответственно (табл. 2).

Использование 11 праймеров позволило идентифицировать 196 полиморфных ISSR фрагментов из 211 проанализированных ампликонов. С использованием праймеров ISSR 807, ISSR 812 и ISSR 834 детектировался 100%-ный полиморфизм. Самый низкий уровень полиморфизма (69,2 %) отмечен с использованием праймера ISSR 5. В среднем уровень полимор-

физма ISSR локусов, выявляемый с помощью 11 праймеров, составил 92,9 %, что является достаточно высоким показателем, зависящим не только от нуклеотидного состава праймеров, но и от вида тестируемых растений.

Для *F. valesiaca* определен видоспецифичный мономорфный фрагмент размером ~ 740 п.н. (праймер ISSR 4), который присутствовал во всех изученных популяциях этого вида (рис. 2). Кроме того, выявлен специфичный мономорфный фрагмент размером ~ 1120 п.н., характерный для популяций двух близкородственных видов *F. pallens* и *F. psammophila*. Этот фрагмент представляет интерес для проведения дальнейших молекулярных исследований с помощью установления его нуклеотидного состава в геномах *F. pallens* и *F. psammophila* для окончательного разрешения дискуссий о целесообразности рассмотрения последнего в ранге самостоятельного вида и, соответственно, его представленности во флорах Украины и Беларуси [3]. Для остальных видов узколистных овсяниц видоспецифичные фрагменты не обнаружены.

При анализе электрофореграмм, помимо видоспецифичных фрагментов, удалось выявить специфичные фрагменты для некоторых популя-

ций определенного вида узколистных овсяниц. Всего идентифицировали 40 таких ампликонов, что в относительных единицах составило 18,9 % общего количества выявленных фрагментов. Количество таких фрагментов у изученных видов варьировало от 2 до 10. Наименьшее число специфических фрагментов идентифицировано для популяций *F. arietina* и *F. valesiaca*. Наибольшим числом специфических ампликонов характеризовались спектры образцов вида *F. psammophila*. Для популяций *F. macutrensis*, *F. rupicola* и *F. pallens* также детектировано 9, 7 и 6 специфических фрагментов амплификации соответственно.

Для оценки генетических взаимоотношений между изученными образцами узколистных овсяниц определяли генетические расстояния по Nei и Li [23]. Полученные значения генетических дистанций варьировали от 0,003 до 0,015. Минимальное значение выявлено для пары из популяции *F. psammophila* (выборки 28 и 29), тогда как максимальное — между популяциями *F. arietina* и *F. pallens* (выборки 11 и 24 соответственно).

Для построения филогенетического дерева методом ближайших соседей (NJ) обрабатывали матрицу генетических дистанций, рассчитанных по алгоритму Nei и Li [23]. В NJ методе для построения дерева используется внешняя группа, в качестве которой мы выбрали *F. brevipila*, занимающего по анатомо-морфологическим признакам промежуточное положение между *F. valesiaca* agg. и *F. glauca* agg. Использование внешней группы позволяет получить топологию дерева, отражающую наиболее вероятное родство между биологическими объектами [25].

На полученной дендрограмме изучаемые образцы узколистных овсяниц объединились в две четко обособленные клады, представляющие виды двух агрегатов — *F. glauca* agg. (клада А) и *F. valesiaca* agg. (клада Б) (рис. 3).

Группирование популяций *F. pallens* и *F. psammophila* в единую кладу А свидетельствует о том, что эти виды являются близкородственными с вероятным происхождением от одной гибридной комбинации, потомки которых приспособились к разным экологическим условиям произрастания. Аналогичные результаты получены Šmarda et al. [20] при использовании

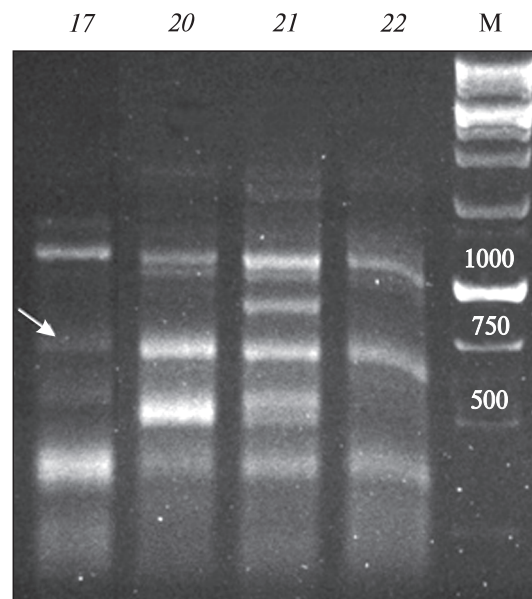
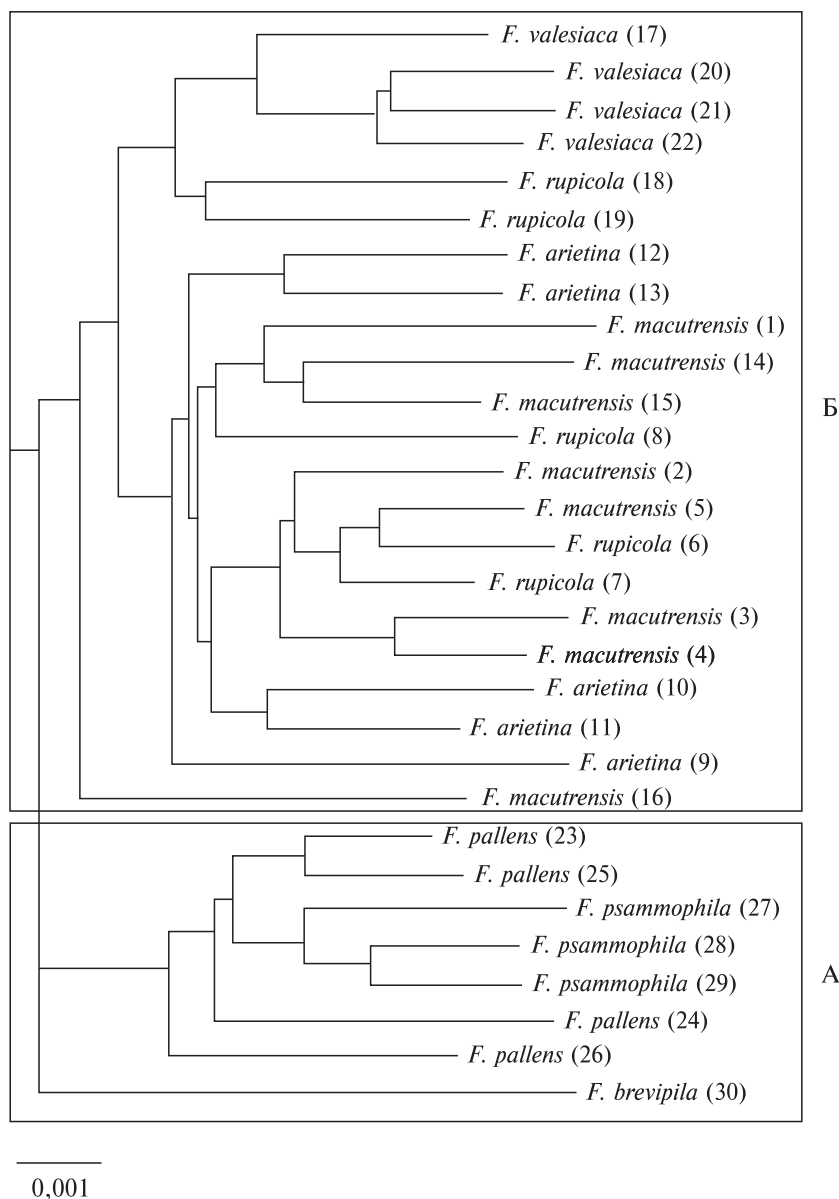


Рис. 2. Электрофоретические спектры ISSR фрагментов (праймер ISSR 4), характерные для *F. valesiaca*: М — маркер молекулярной массы 1 kb ladder. Стрелкой показан характерный для представителей *F. valesiaca* мономорфный фрагмент

AFLP маркеров, которые также подтверждают близкородственные отношения между *F. pallens* и *F. psammophila*. Следует отметить, что эволюционные отношения между этими видами остаются спорными до сих пор.

В ранних работах исследователей указывается на невозможность возведения *F. psammophila* в ранг вида [26, 27]. Тем не менее экологические условия произрастания этих видов (например, *F. pallens* — ярко выраженный кальцефил и петрофит, в то время как *F. psammophila* — типичный пасамофит), а также анализ данных анатомического строения листка и молекулярно-генетических данных указывают на то, что *F. psammophila* можно классифицировать как отдельный вид. Для окончательного подтверждения существования вида *F. psammophila* необходим анализ других участков ядерной ДНК (например, ITS последовательности рибосомальных генов) или же хлоропластных генов, которые часто используют для разграничения близкородственных видов [28].

*F. brevipila*, занимающий по анатомо-морфологическим признакам промежуточное по-



**Рис. 3.** Дендрограмма, полученная на основе сравнительного анализа амплифицированных ISSR фрагментов представителей семи видов узколистных овсяниц

ложение между *F. valesiaca* agg. и *F. glauca* agg., также вошел в кладу А, и можно предположить, что этот вид генетически ближе находится к видам агрегата *F. glauca* agg.

В пределах клады Б наиболее четко обособленными выявились популяции *F. valesiaca*, которые сформировали отдельную группу. Популяции остальных видов узколистных овсяниц

образовали недостаточно дифференцированную гетерогенную группу. На представленной дендрограмме популяции *F. arietina*, *F. macutrensis* и *F. rupicola* перемеживаются между собой без формирования четких групп. В ряде случаев наблюдается обособленное расположение единичных популяций, например, популяций 9 (*F. arietina*) и 16 (*F. macutrensis*) (рис. 2). При этом

между некоторыми популяциями, отобранными из одного географического региона, выделено существенное генетическое подобие. Так, у *F. macutrensis* объединяются вместе популяции 3 и 4, отобранные в Житомирской области, а также популяции 14 и 15, взятые в Ивано-Франковской области. Генетическое сходство обнаружено также между популяциями 10 и 11 *F. arietina*, отобранными в географических регионах Украины и Беларуси.

Оценка неслучайного характера топологии полученного дерева подверглась бутстреп-анализом. Объединение в группы популяций видов узколистных овсяниц в согласованном дереве совпадает с исходным деревом, однако бутстреп-поддержка некоторых узлов была ниже 50 %, что теоретически может приводить к иному группированию образцов в пределах кластера. Тем не менее представленные нами результаты распределения образцов узколистных видов овсяниц являются наиболее вероятными.

Сопоставление наших данных с ранее полученными результатами не позволило дать четкий ответ о закономерностях генетического взаимоотношения между *F. macutrensis*, *F. rupicola* и *F. arietina*. Причиной этого может быть наличие нечетких границ между видами в результате их возможной гибридизации между собой и последующим образованием промежуточных форм растений. В связи с этим определенные дискуссионные вопросы относительно этих видов, которые не были разрешены методом сравнительной анатомии и морфологии, также остались не решенными и при вовлечении в настоящее исследование ISSR маркеров.

Таким образом, в нашем исследовании использование ISSR маркеров позволило четко разграничить два агрегата — *F. glauca* agg. и *F. valesiaca* agg. В пределах первого агрегата также выявлена достаточная дифференциация *F. pallens* и *F. psammophila*. Отсутствие четкой группировки видов по отдельным кластерам среди *F. valesiaca* agg., за исключением образцов самой *F. valesiaca* s.str., свидетельствует о необходимости вовлечения в дальнейший анализ как большего количества самих видов, так и использования альтернативных методов молекулярно-генетического анализа. Тем не менее, выявленный высокий уровень молекулярно-генетического полиморфизма геномов узколи-

стных овсяниц делает ISSR анализ весьма перспективным для установления генетических различий между популяциями отдельных видов.

#### ISSR ANALYSIS OF SOME SPECIES OF ANGUSTIFOLIATE FESCUE

I.A. Bednarskaya, V.N. Popov, Yu.N. Dugar, G.E. Akinina, T.A. Dolgova

Institute of Carpathian Ecology, Lviv  
Plant production institute after named V.Ya. Yurjev  
E-mail: vnpop@mail.ru  
Kharkiv National Agrarian University  
after named V.V. Dokuchaev

Using ISSR analyses genetic relationships were studied between the populations of the next species of angustifoliate fescue: *F. macutrensis*, *F. rupicola*, *F. arietina*, *F. valesiaca*, *F. pallens*, *F. psammophila* and *F. brevipila*. High level of ISSR loci polymorphism (average 92,9 %) was shown. The species specific amplicon was revealed for *F. valesiaca* as well as the common fragment was identified for two related species — *F. pallens* and *F. psammophila*. On the basis of NJ analyses the differentiation of species was confirmed on such large aggregates as *F. glauca* agg. and *F. valesiaca* agg. More clear differentiation of the species was shown for *F. glauca* agg., while for *F. valesiaca* agg. we have not found any regularity of genetic relations among the species that represent this aggregate.

#### ISSR АНАЛІЗ ДЕЯКИХ ВИДІВ ВУЗЬКОЛИСТНИХ КОСТРИЦЬ

I.O. Беднарська, В.М. Попов, Ю.М. Дугарь, Г.Є. Акініна, Т.А. Долгова

Вивчено генетичні взаємовідносини між такими видами вузьколистных костриць: *F. macutrensis*, *F. rupicola*, *F. arietina*, *F. valesiaca*, *F. pallens*, *F. psammophila* и *F. brevipila* з використанням ISSR аналізу. Рівень поліморфізму ISSR локусів у костриць в середньому склав 92,9 %. Виявлено видоспецифічний амплікон для *F. valesiaca*, а також ідентифіковано загальний фрагмент для двох близькоспоріднених видів — *F. pallens* и *F. psammophila*. ISSR аналіз підтвердив диференціацію видів на такі великі агрегати, як *F. glauca* agg. та *F. valesiaca* agg. На підставі даних NJ аналізу показано більш чітку диференціацію видів в межах *F. glauca* agg., тоді як для видів агрегату *F. valesiaca* agg. не встановлено чіткої закономірності генетичних взаємовідносин між його представниками.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Markgraf-Dannenberg I. Festuca L. // Flora Europaea. — Cambridge: Univ. press. — 1980. — 5. — P. 125–153.

2. Беднарська І.О. Рід *Festuca* (Poaceae) у флорі західних регіонів України : Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Київ, 2009. – 21 с.
3. Беднарська І.О. Види збірної групи *Festuca glauca* agg. у флорі України // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2003. – Вип. 33. – С. 27–41.
4. Антонов А.С. Основы геносистематики высших растений. – М.: Наука, 2000. – 135 с.
5. Лухтанов В.А., Кузнецова В.Г. Молекулярно-генетические и цитогенетические подходы к проблемам видовой диагностики, систематики и филогенетики // Журн. общ. биологии. – 2009. – 70. – С. 415–437.
6. Федоренко О.М., Грицких М.В., Малышева И.Е., Николаевская Т.С. Генетическое разнообразие островных природных популяций *Festuca pratensis* Huds.: RAPD-анализ // Генетика. – 2009. – 45. – С. 1287–1291.
7. Stammers M., Harris J., Evans G.M. et al. Use of random PCR (RAPD) technology to analyse phylogenetic relationships in the *Lolium/Festuca* complex // Heredity. – 1995. – 74. – P. 19–27.
8. Torrecilla P., Lopez Rodriguez J.A., Stancik D., Catalan P. Systematics of *Festuca* L. sects. *Eskia* Willk., *Pseudatropis* Kriv., *Amphigenes* (Janka) Tzvel., *Pseudoscariosa* Kriv. and *Scariosae* Hack. based on analysis of morphological characters and DNA sequences // Plant Syst. Evol. – 2003. – 239. – P. 113–139.
9. Bartos J., Sandve S.R., Kolliker R. et al. Genetic mapping of DArT markers in the *Festuca-Lolium* complex and their use in freezing tolerance association analysis // Theor. Appl. Genet. – 2011. – 122. – P. 1133–1147.
10. Namaganda M., Kare A.L., Friebe B., Heun M. AFLP-based differentiation of tropical African *Festuca* species compared to the European *Festuca* complex // Theor. Appl. Genet. – 2006. – 113. – P. 1529–1538.
11. Saha M.C., Cooper J.D., Mian M.A.R. et al. Tall fescue genomic SSR markers: development and transferability across multiple grass species // Theor. Appl. Genet. – 2006. – 113. – P. 1449–1458.
12. Gaut B.S., Tredway L.P., Kubik C. et al. Phylogenetic relationships and genetic diversity among members of the *Festuca-Lolium* complex (Poaceae) based on ITS sequence data // Plant Syst. Evol. – 2000. – 224. – P. 33–53.
13. Hand M.L., Cogan N.O., Stewart A.V., Forster J.W. Evolutionary history of tall fescue morphotypes inferred from molecular phylogenetics of the *Lolium-Festuca* species complex // BMC Evol. Biol. – 2010. – 10. – P. 303.
14. Kopecký D., Bartoš J., Lukaszewski A.J. et al. Development and mapping of DArT markers within the *Festuca-Lolium* complex // BMC Genom. – 2009. – 10. – P. 473.
15. Tehrani M.S., Mardi M., Sahebi J. et al. Genetic diversity and structure among Iranian tall fescue populations based on genomic-SSR and EST-SSR marker analysis // Theor. Appl. Genet. – 2000. – 100. – P. 384–390.
16. Paäakinskiene I., Griffiths C.M., Bettany A.J.E. et al. Anchored simple-sequence repeats as primers to generate species-specific DNA markers in *Lolium* and *Festuca* grasses // Plant Syst. Evol. – 2009. – 282. – P. 57–70.
17. Wang J.P., Bughrara S.S., Mian R.M.A. et al. Parental genome composition and genetic classifications of derivatives from intergeneric crosses of *Festuca mairei* and *Lolium perenne* // Mol. Breed. – 2009. – 23. – P. 299–309.
18. Foggi B., Parolo G., Šmarda P. et al. Revision of the *Festuca alpina* group (*Festuca* section *Festuca*, Poaceae) in Europe // Bot. J. Linn. Soc. – 2012. – 170. – P. 618–639.
19. Foggi B., Gherardi M.E., Signorini M.A. et al. *Festuca inops* and *Festuca gracilior* (Poaceae): are they two different species? // Bot. J. Linn. Soc. – 2006. – 151. – P. 239–258.
20. Šmarda P., Smerda J., Knoll A. et al. Revision of Central European taxa of *Festuca* ser. *Psammophilae* Paulus: morphometrical, karyological and AFLP analysis // Plant Syst. Evol. – 2007. – 266. – P. 197–232.
21. Current protocols in molecular biology / Eds F.M. Ausubel, R. Brent, R.E. Kingston et al. – New York, 1987. – P. 4.3.1–4.3.3.
22. Brody J.R., Kern S.E. Sodium boric acid: a Tris-free, cooler conductive medium for DNA electrophoresis // BioTechniques. – 2004. – 36. – P. 214–216.
23. Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1979. – 76. – P. 5269–5273.
24. Reddy M.P., Sarla N., Siddiq E.A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding // Euphytica. – 2002. – 128. – P. 9–17.
25. Schneider A., Cannarozzi G.M. Support patterns from different outgroups provide a strong phylogenetic signal // Mol. Biol. Evol. – 2009. – 26, № 6. – P. 1259–1272.
26. Алексеев Е.Б. Узколистные овсяницы (*Festuca* L.) Европейской части СССР // Новости систематики высших растений. – 1975. – 12. – С. 11–43.
27. Тверетинова В.В. Род *Festuca* L. // Злаки Украины. – К.: Наук. думка, 1977. – С. 265–320.
28. Шнеер В.С. ДНК-штрихкодирование – новое направление в сравнительной геномике растений // Генетика. – 2009. – 45, № 11. – С. 1436–1448.

Поступила 19.05.13