

ТЕХНОЛОГИЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ГЕНОФОНДОВ РАСТЕНИЙ

С.В. БОРОННИКОВА,

кандидат биологических наук, доцент,

Пермский государственный университет, г. Пермь

Ключевые слова: *генофонд, ISSR- и IRAP-маркеры, полиморфизм, генетическое разнообразие, технология множественного молекулярного маркирования.*

Цель и методика исследований

Сохранение биологического разнообразия занимает особое место среди глобальных проблем современности. Основой биологического разнообразия является его генетическая компонента. Сокращение генетического разнообразия представляет глобальную угрозу для биосферы, поскольку устойчивость воспроизводства природных экосистем и агроэкосистем непосредственно связана с их генетическим обусловленным потенциалом к адаптациям к меняющимся условиям окружающей среды [1-4].

Впервые концепция о необходимости контроля и мобилизации мировых растительных ресурсов была разработана Н.И. Вавиловым, что легло в основу планомерной работы по созданию банков растительных ресурсов в разных странах. К настоящему времени в них собраны миллионы образцов. Однако до сих пор нет универсальных принципов их отбора [5]. Популяционный подход остается наименее разработанным в области сохранения биоразнообразия растений, поскольку до сих пор отсутствуют общепринятые методы идентификации не только популяционных, но даже видовых особенностей генофондов. Эффективность использования традиционных молекулярно-генетических маркеров (структурных генов, митохондриальных локусов) для исследований генофондов до сих пор остается достаточно низкой из-за ограниченности количества локусов, доступных для одновременного генотипирования особей. Это требует поиска новых подходов одновременного молекулярного маркирования многих геномных участков, которые могли бы позволить создавать геномный портрет каждого отдельного индивидуума и таким образом наи-

более объективно оценивать своеобразие генофондов популяций. Особую важность разработка таких методов имеет для решения главной проблемы в поддержании биоразнообразия – отбора наиболее типичных представителей популяций и создания генетически обоснованных программ по их сохранению. Следует подчеркнуть, что до сих пор не разработаны принципы генетического обоснования программ по сохранению генофондов редких и исчезающих видов, для создания которых необходима разработка методов одновременного множественного молекулярного маркирования геномов.

Цель исследований

Разработка технологии идентификации и оценки состояния генофондов редких и исчезающих видов растений с целью генетического обоснования программ по их сохранению.

Выявление эффективного размера популяций и его состава посредством определения семенной продуктивности особой разных возрастных групп генеративного периода и преимущественно способа опыления [6-7] проведены в 1988-2005 годах, а изучение генофондов редких видов растений – с 1994 по 2009 годы. Исследовано генетическое разнообразие 22 природных популяций 4 редких [8] реликтовых [9] видов растений Пермского края: адониса весеннего *Adonis vernalis* L., адониса сибирского *Adonis sibirica* Patr. ex Ledeb., наперстянки крупноцветковой *Digitalis grandiflora* Mill. и бубенчика лилиевидного *Adenophora lilifolia* (L.) A.DC. С целью идентификации на видовом уровне проведены молекулярно-генетические исследования бубенчика трехлистного *Adenophora triphylla* A.DC., наперстянки пурпуровой *Digitalis purpurea* L., напер-

614990, г. Пермь,
ул. Букирева, д. 15.
Тел. 8 (342) 2396-729
Сот. 8-912-987-02-85.



E-mail: SVBoronnikova@yandex.ru

стянки ресничатой *Digitalis ciliata* Trautv., наперстянки шерстистой *Digitalis lanata* Ehrh., наперстянки желтой *Digitalis lutea* L. Молекулярно-генетическая паспортизация проведена по методике С.В. Боронниковой [10]. Для выделения ДНК использовали методику А.М. Торрес [11] с некоторыми модификациями. Анализ молекулярно-генетического полиморфизма ДНК проводился с использованием ISSR- (Inter Simple Sequence Repeats) [12] и IRAP- (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) [13] методов с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР). Секвенирование последовательностей ДНК с использованием капиллярного секвенатора ABI3700 (Biosystems, США) и дизайн праймеров проведены в лаборатории растительной геномики Института биотехнологии университета Хельсинки (Финляндия), руководимой профессором А.Х. Шульманом. Для IRAP- анализа редких видов Урала разработаны и синтезированы 70 праймеров в MWG (Германия). Анализ молекулярно-генетического полиморфизма ДНК, включая основные его стадии, а именно: подбор молекулярных маркеров и условий проведения ПЦР, апробацию праймеров, ПЦР-анализ, детекцию продуктов амплификации и компьютерный анализ данных, проведен в ПЦР-лаборатории Пермского государственного университета. Амплификация ДНК была выполнена в термоциклере MJ (Bio-Rad, США) по программам, традиционно применяемым для ISSR- и IRAP-методов. Температура отжига в зависимости от G/C состава праймеров варьировала от 55 до 68°C. Для проверки достоверности полученных ДНК-спектров опыт по-

Gene pools, ISSR- and IRAP- markers, polymorphism, genetic diversity, the technology of the plural molecular markers.

вторяли не менее двух раз. Амплифицированные продукты были подвергнуты электрофорезу на 1,7-процентном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Гели были отсканированы в системе Gel-Doc (Bio-Rad, США). Для определения длины фрагментов ДНК использовали маркер молекулярной массы (100 bp + 1,5 + 3 Kb DNA Ladder) (ООО «СибЭнзим-М», Москва). Определение длин фрагментов проводилось с использованием программы Quantity One в системе гель-документации Gel Doc XR (Bio-Rad, США).

Результаты исследований

Технология идентификации и оценки состояния генофондов редких и исчезающих видов растений, разработанная на модельных редких реликтовых видах растений, включает семь основных этапов.

На первом этапе определены в Пермском крае число популяций 4 редких реликтовых видов растений, избраны модельные популяции и определена их общая численность. Изученные виды характеризуются небольшим числом популяций: 19 популяций *A. vernalis*, 16 популяций *A. sibirica*, 15 популяций *Ad. lilifolia* и 12 популяций *D. grandiflora*. Нами установлено, что одна популяция *A. vernalis* и одна популяция *Ad. lilifolia* в Ординском районе уничтожены из-за интенсивного выпаса скота. Общая численность изученных видов за последние 15 лет сократилась в среднем на 20%. Из 10 изученных популяций *A. vernalis* малой общей численностью характеризуются Av3, Av6, Av7, Av8, Av10 (от 39 особей в Av7 до 184 особей в Av6), а большей общей численностью (от 457 до 562 особей) – Av1, Av5, Av9. Промежуточное положение занимают популяции Av2 и Av4, общая численность которых составила 248 и 264 особи соответственно. Общая численность в первой изученной популяции *A. sibirica* (As1) составила 22 особи, во второй (As2) – 246, в третьей (As3) – 257 особей. Общая численность изученных популяций *Ad. lilifolia* изменялась от 59 особей в *Ad.lil.4* до 293 особей в *Ad.lil.1*. У изученных популяций *D. grandiflora* общая численность варьировала от 56 (*Dg3*) до 487 особей (*Dg1*).

На втором этапе нами установлено, что в изученных популяциях *A. vernalis* с малой численностью эффективный размер популяций варьировал от 8 (*Av7*) до 64 особей (*Av6*), а в популяциях с большой численностью – от 99 (*Av4*) до 194 (*Av9*) особей. Основной вклад в семенное размножение *A. vernalis* вносят особи g2, которые и составляют эффективный размер популяций. В первой популяции *A. sibirica* (As1) к настоящему времени эффективный размер популяции равен 3 особям, во второй (As2) и третьей (As3) – 89 и 77 соответственно. Эффективный размер популяций у *Ad. lilifolia* и *D. grandiflora* составляют в основном особи g2 и g3. У *Ad. lilifolia* этот показатель варьировал

от 36 в *Ad.lil.4* до 239 особей в *Ad.lil.1*, а у *D. grandiflora* – от 40 особей (*Dg3*) до 304 особей (*Dg1*).

На третьем этапе проведено выявление преимущественного способа опыления. Полученные нами данные по завязываемости плодов после принудительного опыления кастрированных цветков *A. vernalis* смесью пыльцы (85,22%) и при свободном неконтролируемом цветении (83,33%) достоверно ($F(0,34) < F_{\text{ст}}(1,45)$, разность незначима) доказывают преимущество у *A. vernalis* перекрестного опыления. У *A. sibirica* результаты аналогичны (78,88% – при принудительном перекрестном опылении и 72,72% – при свободном цветении), что достоверно ($F(0,91) < F_{\text{ст}}(1,39)$) доказывает преимущество в годы исследований у *A. sibirica* перекрестного опыления. Опыты по завязываемости плодов у *Ad. lilifolia* при разных вариантах опыления, проведенные в 1992 и 1993 годах, показали, что при свободном неконтролируемом цветении завязывалось 86,66% плодов, а при принудительном опылении кастрированных цветков – 88,57%. Достоверно доказано ($F(0,13) < F_{\text{ст}}(1,45)$), что в годы исследований преимущественным способом опыления *Ad. lilifolia* являлось перекрестное опыление. При принудительном перекрестном опылении кастрированных цветков *D. grandiflora* смесью пыльцы 89,04% цветков в наших опытах завязали плоды, а при свободном цветении – 85,05%. *D. grandiflora* является преимущественно перекрестно опыляемым растением, так как сравнение двух выборочных долей вариант посредством критерия Фишера показало, что разность незначима ($F(0,46) < F_{\text{ст}}(1,45)$).

На четвертом этапе проведен анализ молекулярно-генетического полиморфизма ISSR- и IRAP-маркеров в популяциях изученных видов и даны оценки полилокусного сочетания моно- и полиморфных участков ДНК [10, 14, 15]. Изучение генофондов редких и нуждающихся в охране видов растений с использованием молекулярных маркеров ДНК опирается на оценки количественных характеристик генетического разнообразия популяций. Одной из основных количественных характеристик является процент (или доля) полиморфных локусов. Избранные для анализа состояния генофондов ISSR- и IRAP-маркеры являются высокополиморфными, так как в зависимости от вида выявляют от 56 до 111 ISSR-маркеров и от 92 до 127 IRAP-маркеров. В среднем один праймер выявляет 17,6 фрагментов ДНК при ISSR-анализе и 22,5 – при IRAP-анализе. Общее число выявленных у 4 редких видов растений ISSR-маркеров составило 350, а IRAP-маркеров – 450. Как следует из приведенных данных, IRAP-метод позволяет выявить большее число молекулярных маркеров. Стабильность избранных для изучения маркеров подтверждается их воспроизводимостью при повторных ПЦР. В совокупности

избранные нами для изучения ISSR- и IRAP-маркеры позволяют характеризовать полиморфизм большей части геномов, избранных для изучения редких реликтовых видов растений, и установить все основные показатели генетического разнообразия популяций, таких как процент полиморфных локусов ($P_{\text{ог}}$), ожидаемая гетерозиготность (H_E), абсолютное (n_j) и эффективное (n_j) числа аллелей, коэффициент внутривидового различия (m), число (R) и долю (h) редких аллелей. Таким образом, нами на большом фактическом материале убедительно доказано, что для оценки генетического разнообразия популяций редких и нуждающихся в охране видов растений эффективным является использование ДНК-фингерпринтинга (полилокусных спектров) высоко полиморфных и стабильных ISSR- и IRAP-маркеров.

На пятом этапе проведена молекулярно-генетическая паспортизация популяций редких реликтовых видов растений. Методика молекулярно-генетической паспортизации редких и исчезающих видов растений разработана нами на примере природных популяций двух видов растений *A. vernalis* и *A. sibirica* [10, 14]. Она включает в себя семь этапов – выбор эффективных методов анализа полиморфизма ДНК, сбор материала, подбор эффективных праймеров, молекулярно-генетический анализ с использованием ПЦР, выявление идентификационных (мономорфных и полиморфных) маркеров ДНК, составление молекулярно-генетической формулы, штрих-кода и генетического паспорта – и подробно описана нами ранее [15].

Методика молекулярно-генетической паспортизации на основе ISSR- и IRAP-маркеров имеет высокую разрешающую способность, дает стабильно воспроизводимые результаты, характеризуется высоким уровнем стандартизации как набора маркеров, так и техники выполнения анализа, и в перспективе поддается автоматизации. Именно использование IRAP- вместе с ISSR- маркерами позволило нам провести паспортизацию гетерогенных природных популяций редких реликтовых видов растений. Данная методика позволяет установить уровень и состав генетического разнообразия на популяционном уровне и проследить его динамику в дальнейшем, выявить популяции с типичными и специфическими характеристиками генофондов, то есть оптимизировать процедуру сохранения генофондов редких и исчезающих видов растений. Эта методика предлагается в качестве модели для молекулярно-генетической паспортизации популяций редких и исчезающих видов растений.

Нами впервые сформулированы основные принципы множественного молекулярно-генетического маркирования геномов растений с целью идентификации и оценки состояния генофондов гетерогенных природных популяций рас-

тений: использование высокополиморфных молекулярных маркеров, основанных на широко представленных в геномах tandemных повторах; использование не менее двух типов молекулярных маркеров ДНК, основанных на различных структурных элементах геномов; один из используемых молекулярных маркеров должен быть основан на подвижных элементах генома, например, ретротранспозонах; оценка полилокусного сочетания моно- и полиморфных участков ДНК; выявление общих (идентификационных) для рода и вида мономорфных фрагментов ДНК и характеристика популяционных генофондов посредством сочетания полиморфных фрагментов ДНК; обобщение характеристик генофондов в виде молекулярно-генетической формулы, штрих-кода и генетического паспорта.

Данный этап является ключевым, так как именно на нем проведены выявление и оценка сочетаний моно- и полиморфных участков ДНК, то есть идентификация генофондов.

На шестом этапе дана оценка состояния генофондов редких реликтовых видов растений на основании параметров внутри- и межпопуляционной генетической изменчивости. Специфической особенностью исследования редких реликтовых видов растений является малочисленность их популяций в связи с приуроченностью к выходам карбонатных пород, расположением на склонах в районах, подверженных антропогенной трансформации. Влияние численности популяции на показатели генетического разнообразия изучено на примере популяций *A. vernalis*. При сравнении общей численности каждой популяции *A. vernalis* с индексом разнообразия Шеннона (H_j) корреляционной связи не выявлено. При сравнении доли генеративных особей в популяциях с индексом разнообразия Шеннона обнаружена слабая корреляция, которая недостоверна ($r=0,266$; $p=0,458$). Высокая линейная корреляция установлена достоверно ($r=0,9583$; $p=0,0001$) между долей средневозрастных генеративных особей (g_2) и индексом разнообразия Шеннона. Аналогичная картина наблюдается, если сравнить данные показатели отдельно в малых и больших по общей численности популяциях.

Эффективный размер популяций данного вида составляют в основном средневозрастные генеративные особи (g_2). Аналогичные положительные корреляции установлены между долей средневозрастных генеративных особей и с ожидаемой гетерозиготностью (H_e) и числом эффективных аллелей (n_e). Итак, основные показатели генетического разнообразия изученных популяций *A. vernalis* с большой и малой численностью положительно достоверно линейно коррелируют с долей средневозрастных генеративных особей (g_2). При изучении генетической структуры подразделенной популяции установлено, что в популяции

с большой численностью коэффициент подразделенной популяции (G_{ST}) составил 0,169, а в популяциях с малой численностью – 0,371. Отличия между этими показателями достоверны, так как $F(1,77) > F_{st}(1,39)$. Таким образом, нами достоверно установлено, что популяции *A. vernalis* с малой численностью дифференцированы в большей степени.

Для отбора в качестве объектов сохранения генофондов рекомендуются локальные группы популяций с наиболее высоким генетическим разнообразием, такие как популяции *A. vernalis*, расположенные в центральной части островной Кунгурской лесостепи: Av4 ($P_{95}=61,47\%$; $H_e=0,243$; $n_e=1,423$; $m=1,539$; $R=0$); Av5 ($P_{95}=57,80\%$; $H_e=0,222$; $n_e=1,380$; $m=1,527$; $R=4$); Av6 ($P_{95}=62,39\%$; $H_e=0,232$; $n_e=1,389$; $m=1,580$; $R=8$). Кроме этого для сохранения генофондов в качестве генетически более гетерогенных рекомендуются отдельные популяции: *A. sibirica* – As3 Ильинского района ($P_{95}=81,08\%$; $H_e=0,235$; $n_e=1,409$; $R=11$), *Ad. lilifolia* – *Ad.lil.3* Ординского района ($P_{95}=75,0\%$; $H_e=0,275$; $n_e=1,462$; $m=1,685$; $R=0$), *D. grandiflora* – *D.g.2* Кунгурского района ($P_{95}=66,36\%$; $H_e=0,182$; $n_e=1,784$; $m=1,760$; $R=14$).

К объектам сохранения со специфическими характеристиками генофондов, то есть со специфическими сочетаниями полиморфных локусов, относятся самая северная изолированная (Av2) популяция *A. vernalis* на Спасской горе ($P_{95}=34,86\%$; $H_e=0,122$; $n_e=1,199$; $R=7$), первая (Av1) популяция *A. vernalis* ($P_{95}=58,26\%$; $H_e=0,177$; $n_e=1,281$; $R=4$) и третья (*D.g.3*) популяция *D. grandiflora* ($P_{95}=50,45\%$; $H_e=0,1810$; $n_e=1,2807$; $R=17$), расположенные в островной Кунгурской лесостепи, а также первая (*Ad.lil.1*) популяция *Ad. lilifolia*, расположенная на горе Подкаменной ($P_{95}=80,36\%$; $H_e=0,250$; $n_e=1,402$; $R=0$), и первая (As1) популяция *A. sibirica* ($P_{95}=35,13\%$; $H_e=0,141$; $n_e=1,257$; $R=0$) из центральной части Пермского края.

На седьмом этапе рекомендуются меры по сохранению генофондов редких и нуждающихся в охране видов растений. В данной работе мы приводим меры, рекомендуемые для изученных модельных редких реликтовых видов растений.

1. Поддержание генетического разнообразия популяций изученных видов путем сохранения на уровне не ниже исторически сложившегося эффективного размера популяций за счет устранения или снижения антропогенного воздействия: прекращение строительства объектов туризма и зон отдыха на склонах, где обитает вид; изъятие щебня; снижение рекреационной нагрузки; сбор цветущих растений, пожаров.

2. Картирование избранных для сохранения генофондов популяций, строгое их сохранение и учет уникальности при планировании и проведении строительных, нефтедобывающих, хозяйственных и иных работ.

3. Мониторинг популяционных харак-

теристик и генетического разнообразия избранных для сохранения популяций редких реликтовых видов растений.

4. Для сохранения генофонда природных популяций редких и исчезающих видов растений необходима их молекулярно-генетическая паспортизация на популяционном уровне и выявление на ее основе объектов для сохранения генетического разнообразия.

5. Для третьей и шестой популяций *A. vernalis*, второй популяции *A. sibirica*, третьей популяции *D. grandiflora* необходимы экстренные меры охраны, а именно: снижение общей антропогенной нагрузки (запрет на разрушение склонов, на которых расположены популяции, ограничение выпаса скота и посещения людей) путем создания ОППТ с функцией генетических резерватов.

6. Для сохранения генофондов *D. grandiflora* и *Ad. lilifolia* помимо сохранения «in situ» рекомендуется отбор особей из популяций с наибольшим генетическим разнообразием (*Dg1*) и (*Ad.lil.1*) и из популяций со специфическими фондами характеристиками (*Dg2*; *Ad.lil.3*) для введения в культуру в ботанические сады с последующей реинтродукцией.

7. В связи с ограниченной возможностью разведения в культуре двух изученных видов рода *Adonis* необходимо охранять природные популяции этих видов. Кроме этого рекомендуется консервация в генетических банках полноценных семян, отобранных в связи с сильной генетической дифференциацией популяций на основе максимальной представленности генетического разнообразия каждой из немногочисленных природных популяций этих видов.

8. При составлении научно обоснованных программ необходимо учитывать для отбора в качестве объектов сохранения генофондов как группы популяций и популяции с высоким генетическим разнообразием, так и со специфическими характеристиками генофондов.

9. При сильной дифференциации популяций рекомендуется создание промежуточных популяций для поддержания генетического разнообразия.

Выводы. Рекомендации

Для оценки генетической изменчивости редких и нуждающихся в охране видов растений рекомендуется метод ДНК-фингерпринтинга с использованием высокополиморфных стабильных ISSR- и IRAP-маркеров, позволяющий эффективно оценить полиморфизм локусов в геноме и выявить основные показатели генетического разнообразия популяций.

Изученные редкие реликтовые виды растений послужили моделью для разработки и создания концепции идентификации генофондов популяций растений на основании оценок полилокусного сочетания моно- и полиморфных участков ДНК. Разработаны принципы множественного молекулярно-генети-

Агрономия. Биология

ческого анализа геномов растений с целью идентификации и оценки состояния генофондов гетерогенных природных популяций растений.

Показано, что изученные редкие реликтовые виды растений характеризуются высоким уровнем генетической изменчивости. *A. vernalis* ($P_{95}=91,74\%$; $H_E=0,313$; $n_e=1,521$), *A. sibirica* ($P_{95}=89,19\%$; $H_E=0,356$; $n_e=1,608$), *Ad. lilifolia* ($P_{95}=82,14\%$; $H_E=0,228$; $n_e=1,412$) и *D. grandiflora* ($P_{95}=81,08\%$; $H_E=0,237$; $n_e=1,394$).

Несмотря на небольшой эффективный размер популяций, а также их дифференциацию и изолированность, генетическая изменчивость у исследованных редких реликтовых видов растений варьирует в нешироких пределах (уровень полиморфизма ISSR-маркеров – от 81,08 у *D. grandiflora* до 91,74% у *A. vernalis*; уровень полиморфизма IRAP-

маркеров – от 80,43 до 92,91% у двух видов рода *Adonis*).

Генофонд исследованных популяций *D. grandiflora* ($P_{95}=81,08\%$; $H_E=0,237$; $n_e=1,394$; $R=18$) способен самовоспроизводиться без вмешательства извне при условии сохранения существующих популяций, эффективного их размера (как определено в работе, изменяющийся от 40 до 304 особей) и существующего уровня семенной продуктивности (в среднем около 2350 полноценных семян на особь в год). Генофонд *Ad. lilifolia* ($P_{95}=82,14\%$; $H_E=0,250$; $n_e=1,402$; $R=0$) обеднен из-за отсутствия редких аллелей, но также способен к самовоспроизводству при сохранении эффективного размера популяций (от 36 до 239 особей) и при формировании на каждой особи около 570 полноценных семян в год. Выявлено, что у *A. vernalis* и *A. sibirica* часть популяций находится на пороге

деградации генофонда из-за антропогенных факторов, среди которых преобладает разрушение местонахождений из-за строительства горнолыжной трассы (*As1*), нефтепровода (*Av7*), дорог (*Av10*), а также вытаптывание вследствие выпаса скота и посещения людьми.

Показано, что разработанная нами технология идентификации генофондов и ее ключевая часть – методика молекулярно-генетической паспортизации – позволили установить уровень и состав генетического разнообразия популяций, выявить популяции с типичными и специфическими характеристиками генофондов, дать оценку состояния генофондов и рекомендации по их сохранению с учетом уровней внутри- и межпопуляционного генетического разнообразия, то есть оптимизировать процедуру сохранения генофондов редких и исчезающих видов растений.

Литература

1. Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М.: Мир, 1992. 184 с.
2. Глазко В. И. Агроэкологический аспект биосферы: проблема генетического разнообразия. К.: Нора-принт, 1998. 208 с.
3. Лебедева Н. В., Дроздов Н. Н., Криволицкий Д. А. Биоразнообразие и методы его оценки. М.: МГУ, 1999. 94 с.
4. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях / под ред. Ю. П. Алтухова. М.: Наука, 2004. 619 с.
5. Жученко А. А. Адаптивная система селекции растений (эколого-географические основы): монография. М.: Изд-во РУДН, 2001. Т. 1, 2. 1489 с.
6. Вайнагий И. В. Методика статистической обработки материала по семенной продуктивности растений на примере *Potentilla aurea* (L.) // Раст. ресурсы. 1973. Т. 9. Вып. 2. С. 287-296.
7. Хедрик Ф. Мир биологии: генетика популяций / пер. с англ. А. А. Лушниковой, Н. В. Петровой. М.: Техносфера, 2003. 592 с.
8. Красная книга Пермского края / науч. ред. А. И. Шепель. Пермь: Книжный мир, 2008. 256 с.
9. Камелин Р. П., Овеснов С. А., Шилова С. И. Неморальные элементы во флорах Урала и Сибири. Пермь: Изд-во Перм. ун-та, 1999. 83 с.
10. Боронникова С. В. Молекулярно-генетическая идентификация и паспортизация редких и находящихся под угрозой исчезновения видов растений. Пермь: Изд-во Перм. ун-та, 2008. 120 с.
11. Torres A. M., Weeden N. F., Martin A. Linkage among sozume, RFLP- and RAPD-markers in *Vicia faba* // Theor Appl. Genet. 1993. V. 5. P. 937-945.
12. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. 1994. V. 20. P. 176-183.
13. Kalendar R., Grob T., Regina M. IRAP and REMAP: Two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques // Theor. and Applied Genetics. 1999. V. 98. P. 704-711.
14. Боронникова С. В. Молекулярное маркирование и генетическая паспортизация ресурсных и редких видов растений с целью оптимизации сохранения их генофондов // Аграрный вестник Урала. 2009. № 2. С. 57-59.
15. Боронникова С. В. Генетическая паспортизация редких видов растений как основа оптимизации сохранения их генофондов // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В. И. Вернадского. 2009. № 3. С. 8-15.