

Научная статья

УДК 633.811: 577.21

DOI: 10.25230/2412-608X-2023-3-195-24-30

Изучение генетического разнообразия образцов коллекции розы эфиромасличной института сельского хозяйства Крыма с применением ISSR-маркеров

Севиля Бахтияровна Сейтаджиева
Сулейман Февзиевич Абдурашитов
Виктор Анатольевич Золотилов
Наталья Владимировна Невкрытая

ФГБУН «НИИСХ Крыма»
Россия, 295043, Республика Крым,
г. Симферополь, ул. Киевская, д. 150
seren@mail.ru

Аннотация. Роза эфиромасличная – это ценная культура, находящая широкое применение в производстве. Для отечественного производства продукции из эфиромасличных роз актуальный вопрос – соответствие международным стандартам качества. В связи с этим важным этапом селекционной работы в области выведения эфиромасличных роз является оценка их генетического полиморфизма, необходимая для подбора родительских форм, изучения новых образцов. Для защиты прав собственности сортов ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» Радуга, Лань, Лада, Легрина и Золушка, включенных в «Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию», необходима разработка генетических паспортов. Доступным методом изучения генетического разнообразия является анализ межмикросателлитных последовательностей ISSR, также применяемый для генетической паспортизации культур. Для анализа генетического разнообразия образцов коллекции розы эфиромасличной НИИСХ Крыма методом ISSR-ПЦР в 2022 г. было изучено десять сортов роз, часть из которых происходит из Болгарии, а другая – выведена в Крыму. В процессе исследования подобрано восемь наиболее эффективных ISSR-праймеров, определена их оптимальная температура отжига, а также рассчитаны информативные параметры, такие как PIC, EMR и MI. Все прайме-

ры показали 100%-ный полиморфизм образцов. По данным ISSR-ПЦР была построена матрица генетических дистанций, на основании которой методом UPGMA была проведена кластеризация образцов. Анализ дендрограммы показал, что два крымских сорта Аура и Золушка вошли в одну группу с сортами из Болгарии. Это может говорить о генетической близости данных отечественных сортов к болгарским, являющимся мировым эталоном качества. При этом сорт Радуга является генетически удаленным от всех сортов. Результатом работы является разработка эффективной методики оценки генетического разнообразия образцов коллекции розы эфиромасличной НИИСХ Крыма с использованием ISSR-маркеров.

Ключевые слова: роза эфиромасличная, генетическое разнообразие, ISSR-маркеры, генетические дистанции, UPGMA

Для цитирования: Сейтаджиева С.Б., Абдурашитов С.Ф., Золотилов В.А., Невкрытая Н.В. Изучение генетического разнообразия образцов коллекции розы эфиромасличной института сельского хозяйства Крыма с применением ISSR-маркеров // Масличные культуры. 2023. Вып. 3 (195). С. 24–30.

Исследование проведено на базе коллекции генотипов пряноароматических, эфиромасличных и лекарственных растений НИИСХ Крыма, зарегистрированной в РФ как уникальная научная установка УНУ №507515 (<https://ckp-rf.ru>).

UDC 633.811: 577.21

The studying of the genetic diversity of the essential-oil rose collection of the Research Institute of Agriculture of Crimea using ISSR-markers

Seitadzhieva S.B., junior researcher
Abdurashytov S.F., senior researcher, PhD in biology
Zolotilov V.A., researcher
Nevkrytaya N.V., leading researcher, PhD in biology

Research Institute of Agriculture of Crimea
150 Kievskaya str., Simferopol, Republic of Crimea,
295043, Russia
seren@mail.ru

Abstract. Essential-oil rose is a valuable crop widely used in production. The compliance with international quality standards is relevant for domestic production of essential-oil roses. In this regard an important stage of work in essential-oil roses breeding field is assessment of their genetic polymorphism which is necessary for parental form selection, new samples study. To protect property rights of such cultivars of the Research Institute of Agriculture of Crimea as Zolushka, Lan, Lada, Legrina and Raduga that are included in the "The state register of breeding achievements permitted for cultivation", it is neces-

sary to develop genetic passports. An available method for genetic diversity study is inter-simple sequence repeats analysis also used for crops genetic passportization. In 2022, to analyze RIAC essential-oil rose collection genetic diversity with ISSR-PCR, ten rose cultivars were studied, some of which originated from Bulgaria and the others were bred in Crimea. Eight most effective ISSR primers were selected, their optimal annealing temperature was determined and informative parameters such as PIC, EMR and MI were calculated. All primers showed 100% polymorphism of samples. According to ISSR-PCR data, genetic distances matrix was constructed and on its basis samples clustering by UPGMA method was carried out. Due to a dendrogram analysis, two Crimean cultivars Aura and Zolushka were included in the same group with cultivars from Bulgaria. That may indicate genetic proximity of these cultivars to Bulgarian ones which are the world quality standard. At the same time Raduga cultivar is genetically removed from all varieties. The work result is development of effective methodology for assessing RIAC essential oil rose collection genetic diversity using ISSR markers.

Key words: essential-oil rose, genetic diversity, ISSR-markers, genetic distances, UPGMA

The research was conducted on a base of the collection of an aromatic, essential-oil, and medicinal plants gene pool of the Research Institute of Agriculture of Crimea registered in the Russian Federation as a unique scientific attitude UNU No. 507515 (<https://www.ckp-rf.ru>).

Введение. Среди ценных сельскохозяйственных культур роза эфиромасличная востребована благодаря широкому применению получаемых из нее продуктов переработки [1; 2]. Отечественное производство продуктов из эфиромасличных роз ориентируется на соблюдение международных стандартов качества, в связи с чем основным приоритетом эфиромасличного розоводства является выведение сортов с улучшенными качествами. С этой целью в селекционной работе Института сельского хозяйства Крыма в качестве одного из основных компонентов гибридизации используют болгарскую Казанлыкскую розу, эфирное масло которой является наиболее востребованным для использования в парфюмерно-косметическом производстве [3].

Геном розы, состоящий из семи хромосом, удобен для изучения благодаря небольшому размеру. При этом он

достаточно сложный из-за пloidности (от $2n$ до $10n$), которая обуславливает генетическое разнообразие роз [4]. Исследования по оценке генетического разнообразия сортов являются важной частью селекционной работы. Эти данные могут быть использованы для изучения и сохранения генетических ресурсов предковых форм в комплексе с данными о фенотипическом проявлении признаков при формировании родительских пар для гибридизации, а также для создания генетических паспортов на зарегистрированные и новые сорта и защиты авторских прав. Актуальность этих исследований обусловлена также тем, что в настоящее время в «Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию» России включены пять сортов – Радуга, Лань, Лада, Лягринна и Золушка, оригинатором и собственником которых является ФГБУН «Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Крыма» (НИИСХ Крыма) [5; 6; 7].

Изучение генетического разнообразия основывается на анализе полиморфизма ДНК, обусловленного изменениями в нуклеотидной последовательности. Одним из таких подходов является анализ межмикросателлитных последовательностей (ISSR – Inter Simple Sequence Repeats), основанный на методе ПЦР. Преимущества этого анализа: дает четко воспроизводимые и стабильные результаты; является простым и дешевым; обладает мультилокусностью – наличием большого количества продуктов амплификации; для поиска маркеров не требуется знание нуклеотидной последовательности. Недостатком метода является то, что ISSR-маркеры доминантны и не выявляются в случае гетерозиготности организма, а также неизвестны их локализация в геноме и функции. ISSR-метод широко используется для паспортизации растений [8; 9; 10].

Цель работы – изучить генетическое разнообразие образцов коллекции розы

эфиромасличной НИИСХ Крыма с использованием ISSR-маркеров.

Материалы и методы. Исследования по изучению генетического разнообразия образцов коллекции розы эфиромасличной проводили в 2022 г. Материалом для исследования служили образцы из коллекции розы эфиромасличной селекционно-семеноводческого центра НИИСХ Крыма [7] (с. Крымская роза, Белогорский район, Республика Крым): сорта НИИСХ Крыма и коллекционный образец Индика, болгарские сорта, а также образец дикой флоры *Rosa canina* L. из коллекции Ботанического сада имени Н.В. Багрова Крымского федерального университета им. В.И. Вернадского (табл. 1).

Таблица 1

Образцы роз, использованные для анализа генетического разнообразия

Сорт/вид	Название	Происхождение	
Образцы из Болгарии			
Сорта	Белая	<i>Rosa alba</i> L.	
	Искра	<i>R. damascena</i> Mill.	
	Казанлыкская	<i>R. damascena</i> Mill.	
	Свежен	<i>R. damascena</i> Mill.	
	Образцы НИИСХ Крыма		
	Аура	<i>R. damascena</i> Mill. × <i>R. gallica</i> L.	
	Золушка	Весна (<i>R. damascena</i> Mill. × <i>R. gallica</i> subsp. <i>eryosyla</i> Kell. var. <i>austriaca</i> Grantz f. <i>panonica</i> Br.)	
	Лада	Белая (<i>R. alba</i> L.) × Мичуринка (<i>R. damascena</i> Mill.) × <i>R. gallica</i> L.	
	Лань	Белая (<i>R. alba</i> L.) × Мичуринка (<i>R. damascena</i> Mill.) × <i>R. gallica</i> L.	
	Легрина	Белая (<i>R. alba</i> L.) × Мичуринка (<i>R. damascena</i> Mill.) × <i>R. gallica</i> L.	
Радуга	Весна (<i>R. damascena</i> Mill. × <i>R. gallica</i> subsp. <i>eryosyla</i> Kell. var. <i>austriaca</i> Grantz f. <i>panonica</i> Br.) × Крымская красная (<i>R. gallica</i> L.)		
Образцы дикой флоры			
Виды	<i>R. indica</i> Major	Коллекционный образец НИИСХ Крыма	
	<i>R. canina</i> L.	Коллекционный образец Ботанического сада им. Н.В. Багрова	

Для выделения ДНК из растений был использован СТАВ-метод, описанный в литературе, с модификациями [11]. Количество и качество выделенной ДНК

оценивали методом горизонтального электрофореза в 1,5%-ном агарозном геле и на спектрофотометре SPECTROstar Nano (BMG LABTECH, Германия). ПЦР-смесь общим объемом 20 мкл имела следующий состав: 10 нг ДНК, 2,5 единицы HotStart Taq-полимеразы (Qiagen, Германия), 1-кратный буфер, 0,2 мМ дНТФ (Евроген, Россия), 10 пМ праймера (Евроген, Россия). Амплификация проводилась в термоциклере T-100 (BIORAD, США) по следующей программе: начальная денатурация 15 мин при 95 °С; 35 циклов: денатурация 30 с при 94 °С, отжиг праймеров 30 с при 48,9–58,0 °С, элонгация 1 мин при 72 °С; терминальная элонгация 10 мин при 72 °С. Продукты ПЦР визуализировали с помощью горизонтального электрофореза в 2%-ном агарозном геле в 0,5%-ном ТАЕ-буфере с окрашиванием бромистым этидием. Также были определены такие параметры, как PIC, EMR и MI, являющиеся мерами информативности праймера и определяющие его пригодность к использованию [12]. При статистической обработке данных отсутствие полосы приравнивали к 0, а наличие – 1 и составляли бинарную таблицу. На основании данных бинарной таблицы в программе NTSYS-рc 2.1 (Numerical Taxonomy System) [13; 14] была построена матрица генетических дистанций/различий между генотипами по Nei [15]. Используя данные матрицы, проводили кластеризацию исследуемых генотипов путем построения филогенетической дендрограммы методом невзвешенной попарной группировки с усреднением (UPGMA) [16].

Результаты и обсуждение. Общее количество использованных праймеров составляло 20, большая часть из которых не дала удовлетворительных результатов. По итогам детекции ПЦР-продуктов было отобрано восемь праймеров, давших наиболее четкую визуализацию продуктов амплификации на электрофореграмме (табл. 2).

Таблица 2

ISSR-праймеры для анализа генетического разнообразия розы эфиромасличной

Название праймера	Нуклеотидная последовательность праймера (5'→3')	Температура отжига, °C	Источник литературы
ISSR-	AGCAGCAGCAGCY	52,0	[17; 18]
ISSR-B10	CAGCAGCAGCAGCAG	52,4	[13; 17]
ISSR-B13	CAACAACAACAACA	41,9	[13; 17]
ISSR-	AGAGAGAGAGAGAGC	58,0	[18; 19; 20]
ISSR-807	AGAGAGAGAGAGAGT	52,6	[13; 17; 18; 20; 21]
ISSR-	GAGAGAGAGAGAGAA	52,4	[18; 22]
ISSR-834	AGAGAGAGAGAGAGYT	56,2	[14; 21; 23; 24; 25]
ISSR-840	GAGAGAGAGAGAGAYT	48,9	[14; 26]

Все указанные праймеры дают 100 % значения полиморфизма, что характеризует их способность оценивать генетическое разнообразие в полной мере, а также говорит о генетической гетерогенности исследуемых образцов (табл. 3). Значение PIC приблизительно равно для всех праймеров, при этом величины EMR и MI наиболее высоки для праймеров ISSR-B10, ISSR-834 и ISSR-840, из чего следует, что они являются наиболее эффективными для оценки генетического разнообразия образцов эфиромасличной розы НИИСХ Крыма.

Таблица 3

Информативные параметры праймеров, использованных в работе

Праймер	Количество локусов		% полиморфизма	PIC	EMR	MI
	общее	полиморфных				
ISSR-A34	18	18	100	0,23	18	4,15
ISSR-B10	32	32	100	0,24	32	7,75
ISSR-B13	24	24	100	0,22	24	5,36
ISSR-230/41	25	25	100	0,23	25	5,86
ISSR-807	21	21	100	0,28	21	5,90
ISSR-812	21	21	100	0,22	21	4,69
ISSR-834	26	26	100	0,26	26	6,64
ISSR-840	27	27	100	0,25	27	6,64

При кластерном анализе образцов получены результаты, отражающие степень генетической удаленности образцов в со-

ответствии с коэффициентом Nei (рисунок).

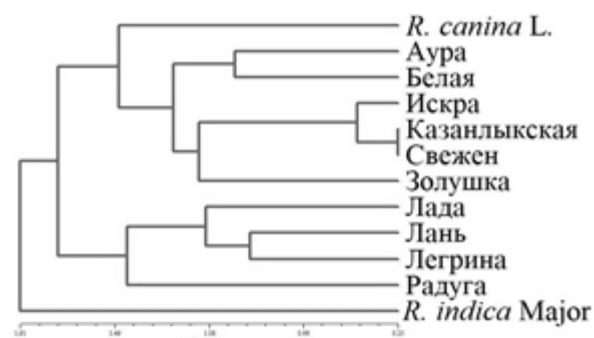


Рисунок – Дендрограмма кластеризации образцов коллекции розы эфиромасличной НИИСХ Крыма методом UPGMA по индексу Nei на основании матрицы генетических дистанций

На дендрограмме выделяются 2 группы: в первую группу входят вид *R. canina* L. и сорта Аура, Белая, Искра, Казанлыкская, Свежен и Золушка; ко второй группе относятся сорта Лада, Лань, Легрина и Радуга.

Максимальной генетической близостью/сходством обладают сорта Казанлыкская и Свежен, выделенные в отдельный подкластер и образующие единый кластер с сортом Искра. Все три сорта происходят от одного предка *R. damascena* и имеют болгарское происхождение, чем, вероятно, объясняется их близость. Этот кластер объединен в надкластер с сортом Золушка, имеющим крымское происхождение. Это может говорить о том, что сорт Золушка генетически близок к болгарским сортам.

В первой группе также присутствуют объединенные в один кластер, несмотря на разное происхождение, крымский сорт Аура и болгарский сорт Белая. Кластеры Аура/Белая и надкластер Искра/Казанлыкская/Свежен/Золушка объединены в одну подгруппу, к которой отдельной ветвью примыкает вид *R. canina* L.

Таким образом, в первой группе присутствуют все болгарские сорта и два крымских сорта.

Во второй группе присутствуют только сорта крымского происхождения. Кластер Лань/Легрина второй по генетической близости после кластера Искра/Казанлыкская/Свежен. Он образует надкластер с сортом Лада. Все три сорта имеют одинаковых предков. Сорт Радуга очень удален генетически от всех сортов, несмотря на то, что имеет одинаковых предков с сортом Золушка. Вид *R. indica* Major является самым генетически удаленным.

Заключение. Подобраны эффективные ISSR-маркеры для оценки генетического разнообразия образцов коллекции розы эфиромасличной НИИСХ Крыма. Определены максимальные и минимальные генетические расстояния/различия между образцами. Отмечено, что крымские сорта Аура и Золушка попадают в общую группировку с сортами болгарского происхождения, что может говорить о генетической близости отечественных сортов к болгарским.

Список литературы

1. Паштецкий В.С., Невкрытая Н.В., Мишнев А.В., Назаренко Л.Г. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра / Под ред. В.С. Паштецкого; 2-е издание, дополненное. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2018. – 320 с.
2. Паштецкий В.С., Тимашева Л.А., Пехова О.А., Данилова И.Л., Серебрякова О.А. Эфирные масла и их качество / Под ред. В.С. Паштецкого. – Симферополь: ИТ «АРИАЛ», 2021. – 212 с.
3. Zolotilov V., Nevkrytaya N., Zolotilova O., Seitadzhieva S., Myagkikh E., Pashtetskiy V., Karpukhin M. The Essential-Oil-Bearing Rose Collection Variability Study in Terms of Biochemical Parameters // *Agronomy*. – 2022. – Vol. 12. – No 2. – P. 529.
4. Gahlaut V., Kumari P., Jaiswal V., Kumar S. Genetics, genomics and breeding in *Rosa* species // *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. – 2021. – Vol. 96. – No 5. – P. 545–559.
5. «Каждому сорту – по паспорту»: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://gossortrf.ru/kazhdomu-sortu-po-pasportu/>.
6. Супрун И.И., Плугатарь С.А., Степанов И.В., Науменко Т.С. Анализ генетических взаимосвязей генотипов рода *Rosa* L. из коллекции Никитского ботанического сада с использованием ISSR- и IRAP- ДНК-маркеров // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2020. – Т. 24. – № 5. – С. 474–480.
7. Коллекция эфирномасличных, пряно-ароматических и лекарственных растений (УНУ № 507515): [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://ckp-rf.ru/usu/507515/>.
8. Godwin I.D., Aitken E.A.B., Smith L.W. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics // *Electrophoresis*. – 1997. – Vol. 18. – No 9. – P. 1524–1528.
9. Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. – 2013. – Т. 17. – № 4/2. – С. 1044–1054.
10. Сухарева А.С., Кулуев Б.Р. ДНК-маркеры для генетического анализа сортов культурных растений // *Биомика*. – 2018. – Т. 10. – № 1. – С. 69–84.
11. Huang Q.X., Wang X.C., Kong H., Guo Y.L., Guo A.C. An efficient DNA isolation method for tropical plants // *African Journal of Biotechnology*. – 2013. – Vol. 12. – No 19. – P. 2727–2732.
12. Чесноков Ю.В., Артемьева А.М. Оценка меры информационного полиморфизма генетического разнообразия // *Сельскохозяйственная биология*. – 2015. – № 5. – С. 571–578.
13. Ahmed S.M., Darwish H.Y., Alamer K.H. Microsatellite, inter simple sequence repeat and biochemical analyses of *Rosa* genotypes from Saudi Arabia // *African Journal of Biotechnology*. – 2017. – Vol. 16. – No 12. – P. 552–557.
14. Ogras T.T., Bastanlar E.K., Metin Ö., Kandemir I., Ozcelik H. Assessment of genetic diversity of rose genotypes using ISSR markers // *Turkish Journal of Botany*. – 2017. – Vol. 41. – No 4. – P. 347–355.
15. Nei M. Genetic distance between populations // *The American Naturalist*. – 1972. – Vol. 106. – No 949. – P. 283–292.
16. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях (научно-методическое руководство) / Под ред. Ю.М. Сиволапа. – Киев: Аграрна наука, 1998. – 156 с.

17. Mirali N., Aziz R., Nabulsi I. Genetic characterization of *Rosa damascena* species growing in different regions of Syria and its relationship to the quality of the essential oils // International Journal of Medicinal and Aromatic Plants. – 2012. – Vol. 2. – No 1. – P. 41–52.

18. Joshi T., Kumar S., Arya L., Riar A. Distance only brings you closer: application of ISSR markers to analyze molecular relationships in roses (*Rosa* spp.) – The Symbol of Love // Preprints. – 2021. – 2021050305. DOI:10.944/preprints.202105.0305.V1.

19. Senapati S.K., Aparajita S., Rout G.R. An assessment of genetic fidelity of in vitro grown plantlets of rose (*Rosa hybrida*) through molecular markers // African Journal of Biotechnology. – 2012. – Vol. 11. – No 100. – P. 16532–16538.

20. Duta-Cornescu G., Pavlusenko C.E., Pobjoga D.M., Negulici M.E., Constantin N., Simon-Gruita A. Genetic analysis of some roses cultivars appropriate for SE Romania climate using PCR-ISSR technology // AgroLife Scientific Journal. – 2017. – Vol. 6. – No 1. – P. 69–74.

21. Vasilyeva O.Yu., Dorogina O.V., Yudanova S.S., Plugatar S.A., Klimenko Z.K. Identifying the rose varieties and natural forms using ISSR-markers // BIO Web of Conferences. – 2020. – Vol. 24. – Art. No 00091.

22. Alotaibi S.S., Hassan M.M., Gaber A., Aljuaid B.S. Genetic relationship and diversity of Taif-roses plant by using three different types of molecular markers // Research Journal of Biotechnology. – 2019. – Vol. 14. – No 6. – P. 130–138.

23. Crespel L., Pernet A., Le Bris M., Gudin S., Oyant L.H.S. Application of ISSRs for cultivar identification and assessment of genetic relationships in rose // Plant breeding. – 2009. – Vol. 128. – No 5. – P. 501–506.

24. Jabbarzadeh Z., Khosh-Khui M., Salehi H., Saberivand A. Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as reproducible and specific tools for genetic diversity analysis of rose species // African Journal of Biotechnology. – 2010. – Vol. 9. – No 37. – P. 6091–6095.

25. Aldhebiani A.Y., Al Saud N.S., Yaslam W.A., Hassan S.M. Molecular characterization of *Rosa damascena* Mill. growing in Taif and Almadinah using ISSR and SSR markers // Research Journal of Biotechnology. – 2018. – Vol. 13. – No 1. – P. 11–19.

26. Korkmaz M., Dogan N.Y. Analysis of genetic relationships between wild Roses (*Rosa* L.

spp.) growing in Turkey // Erwerbs-Obstbau. – 2018. – Vol. 60. – No 4. – P. 305–310.

References

1. Pashtetskiy V.S., Nevkrytaya N.V., Mishnev A.V., Nazarenko L.G. Efiromaslichnaya ot-ras' Kryma. Vchera, segodnya, zavtra / Pod red. V.S. Pashtetskogo; 2-e izdanie, dopolnennoe. – Simferopol': IT «ARIAL», 2018. – 320 s.

2. Pashtetskiy V.S., Timasheva L.A., Pekhova O.A., Danilova I.L., Serebryakova O.A. Efirnye masla i ikh kachestvo / Pod red. V.S. Pashtetskogo. – Simferopol': IT «ARIAL», 2021. – 212 s.

3. Zolotilov V., Nevkrytaya N., Zolotilova O., Seitadzhieva S., Myagkikh E., Pashtetskiy V., Karpukhin M. The Essential-Oil-Bearing Rose Collection Variability Study in Terms of Biochemical Parameters // Agronomy. – 2022. – Vol. 12. – No 2. – P. 529.

4. Gahlaut V., Kumari P., Jaiswal V., Kumar S. Genetics, genomics and breeding in *Rosa* species // The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. – 2021. – Vol. 96. – No 5. – P. 545–559.

5. «Kazhdomu sortu – po pasportu»: [Elektronnyy resurs]. – Rezhim dostupa: <https://gossortrf.ru/kazhdomu-sortu-po-paspor-tu/>.

6. Suprun I.I., Plugatar' S.A., Stepanov I.V., Naumenko T.S. Analiz geneticheskikh vzaimosvyazey genotipov roda *Rosa* L. iz kolleksiï Nikitskogo botanicheskogo sada s ispol'zovaniem ISSR- i IRAP- DNK-markerov // Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. – 2020. – T. 24. – № 5. – S. 474–480.

7. Kolleksiya efirmaslichnykh, pryano-aromaticeskikh i lekarstvennykh rasteniy (UNU № 507515): [Elektronnyy resurs]. – Rezhim dostupa: <https://ckp-rf.ru/usu/507515/>.

8. Godwin I.D., Aitken E.A.B., Smith L.W. Application of inter simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics // Electrophoresis. – 1997. – Vol. 18. – No 9. – P. 1524–1528.

9. Khlestkina E.K. Molekulyarnye markery v geneticheskikh issledovaniyakh i v selektsii // Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. – 2013. – T. 17. – № 4/2. – S. 1044–1054.

10. Sukhareva A.S., Kuluev B.R. DNK-marke-ry dlya geneticheskogo analiza sortov kul'turnykh rasteniy // Biomika. – 2018. – T. 10. – № 1. – S. 69–84.

11. Huang Q.X., Wang X.C., Kong H., Guo Y.L. Guo A.S. An efficient DNA isolation method for tropical plants // African Journal of Bio-

technology. – 2013. – Vol. 12. – No 19. – R. 2727–2732.

12. Chesnokov Yu.V., Artem'eva A.M. Otsenka mery informatsionnogo polimorfizma geneticheskogo raznoobraziya // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. – 2015. – № 5. – S. 571–578.

13. Ahmed S.M., Darwish H.Y., Alamer K.H. Microsatellite, inter simple sequence repeat and biochemical analyses of Rosa genotypes from Saudi Arabia // African Journal of Biotechnology. – 2017. – Vol. 16. – No 12. – P. 552–557.

14. Ogras T.T., Bastanlar E.K., Metin Ö., Kandemir I., Ozcelik H. Assessment of genetic diversity of rose genotypes using ISSR markers // Turkish Journal of Botany. – 2017. – Vol. 41. – No 4. – P. 347–355.

15. Nei M. Genetic distance between populations // The American Naturalist. – 1972. – Vol. 106. – No 949. – P. 283–292.

16. Ispol'zovanie PTsR-analiza v genetiko-selektcionnykh issledovaniyakh (nauchno-metodicheskoe rukovodstvo) / Pod red. Yu.M. Sivolapa. – Kiev: Agrarna nauka, 1998. – 156 s.

17. Mirali N., Aziz R., Nabulsi I. Genetic characterization of *Rosa damascena* species growing in different regions of Syria and its relationship to the quality of the essential oils // International Journal of Medicinal and Aromatic Plants. – 2012. – Vol. 2. – No 1. – P. 41–52.

18. Joshi T., Kumar S., Arya L., Riar A. Distance only brings you closer: application of ISSR markers to analyze molecular relationships in roses (*Rosa* spp.) – The Symbol of Love // Preprints. – 2021. – 2021050305. DOI: 10.944/preprints 202105.0305.V1.

19. Senapati S.K., Aparajita S., Rout G.R. An assessment of genetic fidelity of in vitro grown plantlets of rose (*Rosa hybrida*) through molecular markers // African Journal of Biotechnology. – 2012. – Vol. 11. – No 100. – P. 16532–16538.

20. Duta-Cornescu G., Pavlusenko C.E., Pobjoga D.M., Negulici M.E., Constantin N., Simon-Gruita A. Genetic analysis of some roses cultivars appropriate for SE Romania climate using PCR-ISSR technology // AgroLife Scientific Journal. – 2017. – Vol. 6. – No 1. – P. 69–74.

21. Vasilyeva O.Yu., Dorogina O.V., Yudanova S.S., Plugatar S.A., Klimenko Z.K. Identifying the rose varieties and natural forms using ISSR-markers // BIO Web of Conferences. – 2020. – Vol. 24. – Art. No 00091.

22. Alotaibi S.S., Hassan M.M., Gaber A., Aljuaid B.S. Genetic relationship and diversity of

Taif-roses plant by using three different types of molecular markers // Research Journal of Biotechnology. – 2019. – Vol. 14. – No 6. – P. 130–138.

23. Crespel L., Pernet A., Le Bris M., Gudin S., Oyant L.H.S. Application of ISSRs for cultivar identification and assessment of genetic relationships in rose // Plant breeding. – 2009. – Vol. 128. – No 5. – P. 501–506.

24. Jabbarzadeh Z., Khosh-Khui M., Salehi H., Saberivand A. Inter simple sequence repeat (ISSR) markers as reproducible and specific tools for genetic diversity analysis of rose species // African Journal of Biotechnology. – 2010. – Vol. 9. – No 37. – P. 6091–6095.

25. Aldhebiani A.Y., Al Saud N.S., Yaslam W.A., Hassan S.M. Molecular characterization of *Rosa damascena* Mill. growing in Taif and Almadinah using ISSR and SSR markers // Research Journal of Biotechnology. – 2018. – Vol. 13. – No 1. – P. 11–19.

26. Korkmaz M., Dogan N.Y. Analysis of genetic relationships between wild Roses (*Rosa* L. spp.) growing in Turkey // Erwerbs-Obstbau. – 2018. – Vol. 60. – No 4. – P. 305–310.

Сведения об авторах

С.Б. Сейтаджиева, млад. науч. сотр.

С.Ф. Абдурашигов, канд. биол. наук, ст. науч. сотр.

В.А. Золотилов, науч. сотр.

Н.В. Невкрытая, канд. биол. наук, вед. науч. сотр.

Получено/Received

17.07.2023

Получено после рецензии/Manuscript peer-reviewed

21.08.2023

Получено после доработки/Manuscript revised

21.08.2023

Принято/Accepted

21.09.2023

Manuscript on-line

30.11.2023