

УДК 631.523

DOI: 10.33814/AFP-2222-5366-2024-4-18-26

**ПРИМЕНЕНИЕ SCOT-МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ  
ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ СОРТОВ  
МЯТЛИКА ЛУГОВОГО (*Poa pratensis* L.)**

**Е.Ю. Кривопуск**, младший научный сотрудник  
**Ю.М. Мавлютов**, кандидат биологических наук

ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»  
141055, Россия, Московская область, г. Лобня, ул. Научный городок, корп. 1  
[ekaterinakrivopusk@gmail.com](mailto:ekaterinakrivopusk@gmail.com)

**APPLICATION OF SCOT MARKERS FOR EVALUATION  
OF THE GENETIC VARIABILITY OF BLUE-GRASS  
VARIETIES (*Poa pratensis* L.)**

**E.Yu. Krivopusk**, Junior Researcher  
**Yu.M. Mavlyutov**, Candidate of Biological Sciences

Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology  
141055, Russia, Moscow region, Lobnya, Nauchnyi gorodok str., k. 1  
[ekaterinakrivopusk@gmail.com](mailto:ekaterinakrivopusk@gmail.com)

Проведен анализ по оценке межсортового генетического полиморфизма мятлика лугового (*Poa pratensis* L.) на основе ПЦР-технологии с использованием девяти SCoT-маркеров. Определены информативные праймеры для дифференциации сортов, рассчитаны показатели оценки генетического разнообразия: индексы Шеннона и Нея, эффективное число аллелей, показатель информационного содержания праймеров (PIC — polymorphism information content). С помощью дендрограммы филогенетических отношений, построенной методом Neighbor-Joining, и анализа главных координат (PCoA — principal coordinates analysis) проведена оценка генетической структуры изучаемой коллекции. В результате исследований составлены молекулярные формулы, которые могут быть использованы в качестве индивидуальной характеристики оригинальности сорта и для его ДНК-паспортизации.

**Ключевые слова:** мятлик луговой, генетическое разнообразие, кластерный анализ, межсортовой ДНК-полиморфизм, SCoT-маркеры, дендрограмма генетического сходства.

The analysis was conducted to assess the inter-varietal genetic polymorphism of *Poa pratensis* based on PCR technology using nine SCoT markers. The informative primers for variety differentiation have been identified; parameters of genetic diversity were estimated: Shannon's index, Nei's genetic diversity index, effective number of alleles and the indicator of the information content of primers (PIC — polymorphism information content). Genetic structure of the analyzed collection was evaluated using the Neighbor-Joining dendrogram and PCoA-analysis. As a result of the research, molecular formulas were developed that can be used as the individual characteristic of the variety originality and for DNA certification.

**Keywords:** blue-grass (*Poa pratensis* L.), genetic diversity, cluster analysis, inter-varietal DNA polymorphism, SCoT markers, dendrogram of the genetic relationship.

**Введение.** Семейство *Poaceae*, или мятликовые, является одним из крупнейших среди однодольных растений и важных для хозяйственного использования. Оно включает в себя около 12 тысяч видов, которые распространены по всему миру. Свое название злаки получили от одного из наиболее распространенных родов — мятлика (*Poa*). Этот род объединяет 575 видов многолетних и реже — однолетних травянистых растений [1].

В кормопроизводстве широко используется мятлик луговой (*Poa pratensis* L.). Эта культура относится к группе низовых корневищно-рыхлокустовых злаков, которые являются обязательным компонентом пастбищной травосмеси. Благодаря густой корневой системе, растения способны формировать плотный травостой с хорошей дерниной и выдерживать вытаптывание [2]. Мятлик луговой отличается высокой зимостойкостью, легко переносит заморозки даже во время вегетационного периода; обладает повышенной энергетической и протеиновой питательностью: кормовая масса содержит до 15% сырого протеина в пересчете на сухое вещество. Отмечается, что мятлик луговой лучше поедается всеми видами скота в травосмесях, чем в чистых посевах [3; 4]. На текущий момент в Государственном реестре РФ зарегистрировано большое количество сортов мятлика лугового газонного назначения, но нет сведений об эффективности их использования для скармливания скоту [5].

В отечественной литературе практически не встречается информация о молекулярно-генетическом анализе культуры мятлика лугового, что осложняет

селекционную работу по созданию новых сортов с улучшенными хозяйственно ценными признаками. Среди многочисленных техник ДНК-маркирования, используемых в последние десятилетия для ускорения и повышения интенсивности селекционного процесса, хорошие результаты в работе с кормовыми культурами показала система, основанная на применении SCoT-маркеров (*Start Codon Targeted Polymorphism*) [6–8].

*Цель данного исследования* заключалась в изучении генетического разнообразия мятлика лугового с помощью SCoT-маркеров для использования полученных данных в селекции, семеноводстве, государственной системе регистрации новых селекционных достижений.

**Материалы и методы.** Объектом исследования служили семена 13 сортов мятлика лугового, предоставленные Всероссийским институтом генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР) и Центром коллективного пользования (ЦКП) «Биологические коллекции кормовых растений» ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» (табл. 1).

Проращивание семян осуществляли на фильтровальной бумаге в чашках Петри при естественном освещении. На седьмые и 21-е сутки проводили учет всхожести семян согласно ГОСТ 12038-84 [9].

Из «балк-образцов» (суммарная навеска части растительной ткани 30 проростков на сорт) выделяли ДНК модифицированным SDS-методом [10]. Измерение концентрации и чистоты препаратов ДНК осуществляли на спектрофотометре UV-vis Nabi («MicroDigital Co., Ltd.», Корея).

## 1. Исследуемые образцы мятлика лугового

Сорт	Номер в коллекции	Год репродукции	Источник
Barzan	к-40925	2011	Всероссийский институт генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (ВИР)
Balin	к-4323	2010	
Охтинский	к-46412	2019	
Glade	к-45103	2012	
Белогорский 76	к-44310	2021	
Birrita	к-54238	2020	
Эвора	к-52283	2018	
Yulia	к-48978	2018	
Ковровый	к-51304	2015	
Ligute	к-49069	2022	
Blue Chip	363	2008	
Тамбовец	159	2008	
Дар	256	2021	

Для анализа мятлика лугового использовали девять SCoT-маркеров (табл. 2), из которых отбирали информативные, позволяющие обнаружить полиморфизм при высокой воспроизводимости результатов.

## 2. Характеристика SCoT-маркеров для анализа образцов мятлика лугового [11]

Название маркера	Последовательность нуклеотидов (5'-3')
SCoT 06	CAACAATGGCTACCACGC
SCoT 07	CAACAATGGCTACCACGG
SCoT 13	ACGACATGGCGACCATCG
SCoT 15	ACGACATGGCGACCGCGA
SCoT 17	ACCATGGCTACCACCGAG
SCoT 20	ACCATGGCTACCACCGCG
SCoT 23	CACCATGGCTACCACCAG
SCoT 32	CCATGGCTACCACCGCAC
SCoT 35	CATGGCTACCACCGCCC

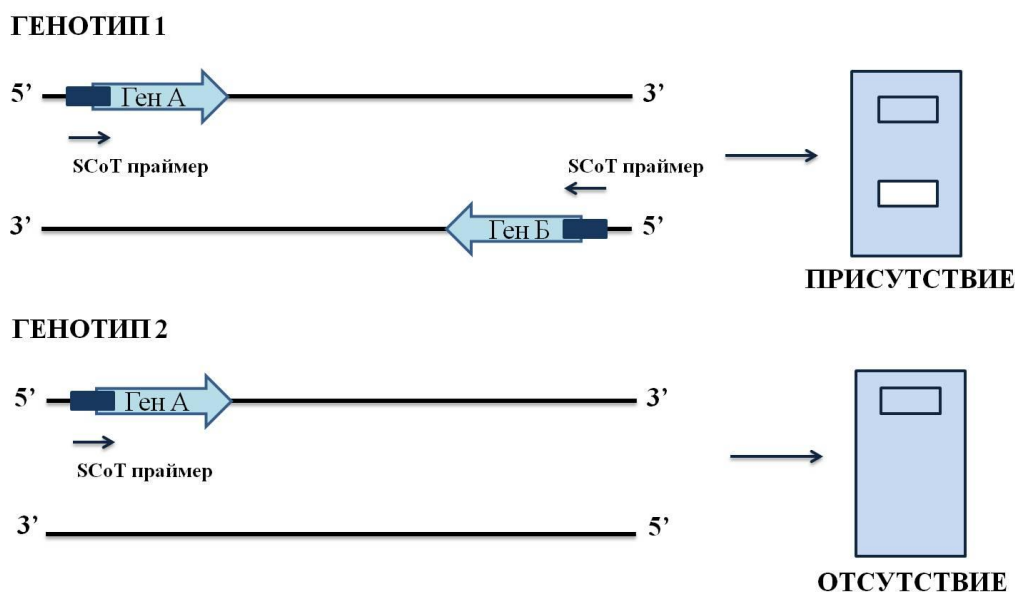
Общий объем ПЦР-смеси для анализа составлял 20 мкл и содержал 2 мкл 10x Taq Turbo buffer, 0,4 мкл 50x dNTP mix, 0,2 мкл Taq-ДНК полимеразы, 1 мкл праймера, 1 мкл ДНК (концентрацией 30 нг/мкл) и 15,4 мкл деионизированной воды. ПЦР осуществлялась на приборе «Bio-Rad T100, USA». Режим амплификации был следующий: 3 мин — 94 °С; далее 35 циклов: 1 мин — 94 °С, 1 мин — 50 °С, 1 мин — 72 °С и 5 мин — 72 °С [11].

Полученные ПЦР-продукты разделяли в 1,6%-ном агарозном геле при 90 V в течение двух часов, а затем с помощью программного обеспечения Image Lab version 6.0.1 («Bio-Rad», США) определяли их размеры в сравнении с маркером молекулярного веса (Step 100 Long, «Biolabmix», Россия).

Для статистической обработки данных использовались программы POPGENE version 1.3.2, DARwin version 6.0.21 и надстройка MS Excel «GenAlex» [12; 13].

**Результаты и обсуждение.** Метод SCoT-анализа основан на использовании одиночного 18-нуклеотидного праймера, нацеленного на консервативную область, фланкирующую стартовый кодон ATG на обеих цепях ДНК растений (рис. 1).

Эта техника маркирования отличается высокой воспроизводимостью, благодаря использованию длинных праймеров с повышенным содержанием гуанина и цитозина (50–72%), имеющих высокую температуру отжига (~50 °C) [11]. Продукты ПЦР, полученные в результате анализа, легко визуализируются с помощью стандартного электрофореза в агарозном геле. SCoT-маркеры, как правило, доминантны, однако, в исключительных случаях могут быть кодоминантными вследствие мутаций, связанных с инсерциями и делециями [11]. Метод достаточно простой, эффективный и экономичный; применяется для исследований по изучению генетического разнообразия, в филогенетике, для идентификации видов и сортов растений и т.д. [14].



**Рис. 1.** Принцип ПЦР-амплификации с применением SCoT-маркеров [11]

Первоначальным этапом молекулярно-генетических исследований любого объекта является подготовка образцов ДНК для анализа. В процессе проращивания семян мятлика лугового выявлены

некоторые особенности культуры, в частности, длительный период прорастания: по разным сортам он колебался в диапазоне от 15 до 21 дня. Показатели энергии прорастания и всхожести соста-

вили в среднем 31 и 50% соответственно.

Для выделения ДНК формировали образец от каждого сорта, включающий 30 рандомно отобранных проростков. В результате применения SDS-метода с внесением ряда модификаций получили препараты геномной ДНК с удовлетворительным выходом и качеством для использования в ПЦР-анализе. Средняя концентрация образцов составила 68,3 нг/мкл, средние значения оптической плотности при соотношении длин волн 260 и 280 нм, а также 260 и 230 нм равнялись 1,950 и 1,706 соответственно. В реакционной ПЦР-смеси использовали образцы ДНК с концентрацией, доведенной до единого значения — 30 нг/мкл.

В предварительном анализе по выявлению полиморфизма ДНК мятлика лугового были определены информативные маркеры: SCoT 07, SCoT 13, SCoT 17, SCoT 23, SCoT 35. По результатам генотипирования с ними получено 246 ампликонов размером от 410 до 2885 п.н. (пар нуклеотидов), из них 62 — полиморфные (25%). У трех образцов выявлены четыре уникальных продукта ПЦР размером 1946 п.н. и 2621 п.н. (Barzan: SCoT 07, SCoT 13), 1629 п.н. (Дар: SCoT 13), 2069 п.н. (Тамбовец: SCoT 13).

На основании данных бинарных матриц рассчитали показатели генетической изменчивости в изучаемой коллекции мятлика лугового и построили дендрограмму сходства методом Neighbor-Joining (NJ) (табл. 3, рис. 2).

### 3. Показатели генетической изменчивости сортов мятлика лугового по результатам анализа с использованием SCoT-маркеров

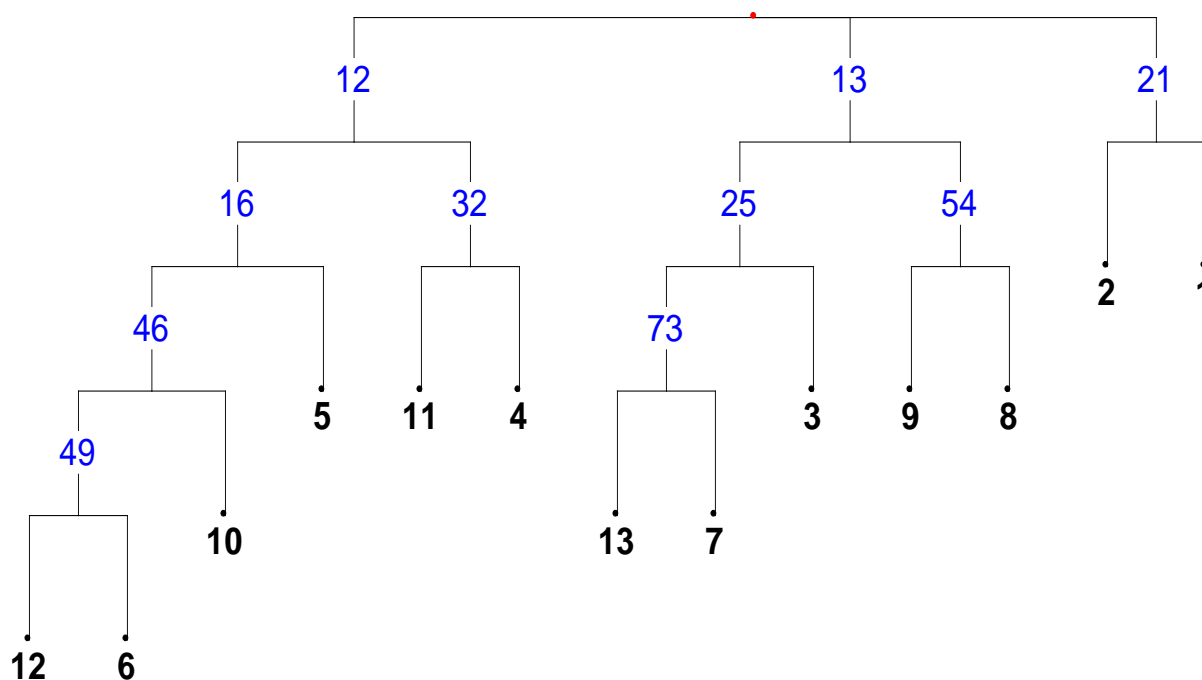
Маркер	Размер продукта, п.н.	Эффективное число аллелей (Ne)	Индекс разнообразия по Нею (He)	Индекс Шеннона (I)	PIС ( <i>polymorphism information content</i> )
SCoT 07	911–2408	1,39	0,26	0,42	0,810
SCoT 13	1112–2621	1,42	0,27	0,42	0,742
SCoT 17	1164–1693	1,18	0,12	0,20	0,747
SCoT 23	920–2885	1,40	0,24	0,37	0,842
SCoT 35	410–1534	1,59	0,34	0,51	0,878
Среднее	—	1,40	0,25	0,38	0,804

Эффективное число аллелей в среднем составило 1,40 и колебалось от 1,18 (SCoT 17) до 1,59 (SCoT 35).

Индекс разнообразия Нея составил в среднем 0,25 и имел разброс от 0,12 (SCoT 17) до 0,34 (SCoT 35). Среднее значение индекса Шеннона равнялось 0,38 (наименьшее у SCoT 17 — 0,20, наибольшее у SCoT 35 — 0,51).

Значения этих трех показателей не являются высокими, что свидетельствует об умеренном уровне ДНК-полиморфизма.

Среднее значение меры информационного полиморфизма (PIС) составило 0,804. Это позволяет считать используемые маркеры достаточно информативными.



**Рис. 2. Дендрограмма филогенетических отношений между анализируемыми сортами мятлика лугового:**  
 1 – Barzan, 2 – Охтинский, 3 – Дар, 4 – Birnita, 5 – Ковровый, 6 – Blue Chip, 7 – Glade, 8 – Тамбовец, 9 – Эвора, 10 – Белогорский 76, 11 – Yulia, 12 – Ligute, 13 – Balin

На дендрограмме наблюдается группировка сортов по трем кластерам.

В первой подгруппе первого кластера расположились сорта Blue Chip, Ligute, Белогорский 76 (бутстреп-поддержка 46%) и сорт Ковровый. Во второй подгруппе — сорта Birnita и Yulia (бутстреп-поддержка 32%).

В первую подгруппу второго кластера вошли сорта Balin и Glade (бутстреп-поддержка 73%) и сорт Дар. Во второй подгруппе объединились сорта Тамбовец и Эвора (бутстреп-поддержка 54%).

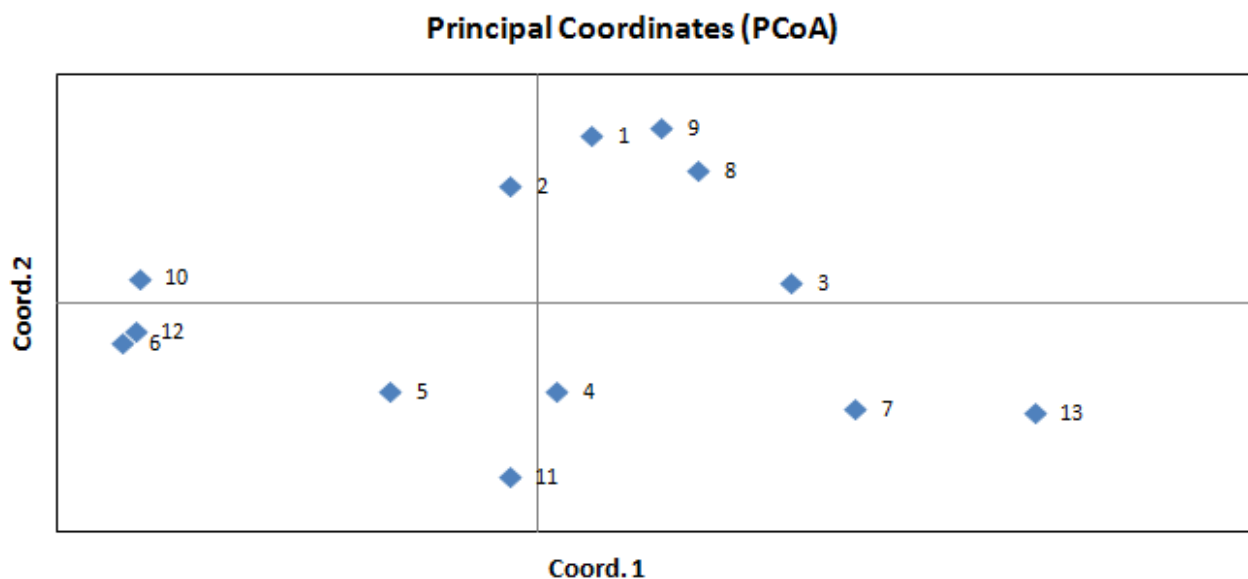
В третьем кластере находятся сорта Охтинский и Barzan.

Для визуальной оценки генетических взаимосвязей в анализируемой коллекции провели РСoA-анализ, который вы-

явил определенные закономерности в небольших подгруппах (рис. 3).

Так, например, наблюдалось близкое генетическое сходство между сортами Blue Chip, Ligute и Белогорский 76; Охтинский и Barzan; Тамбовец и Эвора. На незначительном удалении друг от друга располагались сорта Birnita, Ковровый и Yulia из первого кластера; Balin, Дар и Glade — из второго кластера.

Полученные данные по аллельному разнообразию использовали для составления молекулярно-генетических формул сортов мятлика лугового (табл. 4). В них буквы латинского алфавита обозначают код маркера, а нижний индекс соответствует размеру выявленного аллеля в парах нуклеотидов.



**Рис. 3. PCoA анализ сортов мятлика лугового:**  
 1 – Barzan, 2 – Охтинский, 3 – Дар, 4 – Birnita, 5 – Ковровый, 6 – Blue Chip, 7 – Glade,  
 8 – Тамбовец, 9 – Эвора, 10 – Белогорский 76, 11 – Yulia, 12 – Ligute, 13 – Balin

**4. Молекулярно-генетические формулы образцов мятлика лугового, составленные по результатам анализа с использованием SCoT-маркеров**

Название сорта	Молекулярно-генетическая формула
Barzan	A <sub>1919,1946</sub> B <sub>1226,1299,2621</sub> C <sub>1164,1467,1546</sub> D <sub>1161,1794,1870,2031,2242,2648</sub> E <sub>585,670,846,1081</sub>
Охтинский	A <sub>1089,1919</sub> B <sub>1226,1612,2417,1299</sub> C <sub>1164,1467,1546,1693</sub> D <sub>920,1599,1794,1870,2031,2242,2648</sub> E <sub>545,585,846,1255</sub>
Дар	A <sub>1629</sub> B <sub>1112,1299</sub> C <sub>1164,1467,1546,1693</sub> D <sub>1794,1870,2031</sub> E <sub>545,585,846,1081,1534</sub>
Birnita	A <sub>1089,1461,1842</sub> B <sub>1299</sub> C <sub>1164,1467,1546,1693</sub> D <sub>1794,1870,2031,2648</sub> E <sub>585,846,941,1081,1255</sub>
Ковровый	A <sub>911,1089,1919</sub> B <sub>1226,1299</sub> C <sub>1164,1467,1546,1693</sub> D <sub>1161,1794,1870,2031,2648</sub> E <sub>545,585,941,978,1081,1255</sub>
Blue Chip	A <sub>1089,1254,1919</sub> B <sub>1540,2417,1299</sub> C <sub>1164,1467,1546,1693</sub> D <sub>1794,1870,2031,2648</sub> E <sub>410,545,585,978,1081,1255</sub>
Glade	A <sub>911,1089,1919</sub> B <sub>1112,1612,1299</sub> C <sub>1164,1467,1546,1693</sub> D <sub>1599,1764,1870,2031,2648,2885</sub> E <sub>545,585,941,1081</sub>
Тамбовец	A <sub>1919,2069</sub> B <sub>1299</sub> C <sub>1164,1467,1546,1693</sub> D <sub>920,1599,1794,1870,2031,2648</sub> E <sub>545,585,846,978,1081,1451</sub>
Эвора	A <sub>1254,1461,1919,2408</sub> B <sub>1299</sub> C <sub>1164,1467,1546,1693</sub> D <sub>1599,1794,1870,2031,2242</sub> E <sub>545,585,846,978,1081,1451</sub>
Белогорский 76	A <sub>1089,1254,1461,1919,2408</sub> B <sub>2417,1299</sub> C <sub>1164,1467,1546,1693</sub> D <sub>1161,1794,1870,2031,2648</sub> E <sub>545,585,978,1081,1255</sub>
Yulia	A <sub>1842,1919</sub> B <sub>1540,1299</sub> C <sub>1467,1546,1693</sub> D <sub>1794,1870,2031</sub> E <sub>585,941,978,1081,1255,1534</sub>
Ligute	A <sub>1089,1919</sub> B <sub>1540,2417,1299</sub> C <sub>1467,1546,1693</sub> D <sub>1161,1794,1870,2031,2648</sub> E <sub>410,545,585,670,846,978,1081,1255</sub>
Balin	A <sub>911,1089,1919</sub> B <sub>1112,1299</sub> C <sub>1467,1546,1693</sub> D <sub>1599,1794,1870,2031,2885</sub> E <sub>585,846,941,1081,1451</sub>

*Примечание. SCoT 07 — A; SCoT 13 — B; SCoT 17 — C; SCoT 23 — D; SCoT 35 — E.*

*Красным цветом выделены уникальные для сорта аллели.*

**Закключение.** Результаты исследования свидетельствуют об эффективности применения системы SCoT-маркирования для оценки генетического разнообразия

разия мятлика лугового. Для анализируемых образцов определены информативные маркеры, позволяющие выявлять полиморфизм ДНК на межсортовом уровне: SCoT 07, SCoT 13, SCoT 17, SCoT 23, SCoT 35. Составлены индивидуальные молекулярно-генетические формулы, как основа для разработки ДНК-паспортов. Учитывая, что на отече-

ственных сортах мятлика лугового подобные исследования проведены впервые, полученная информация, несомненно, будет полезна при оценке сортовой чистоты в семеноводстве, при сохранении биоресурсных коллекций и при выборе материала для селекции этого ценного кормового и газонного вида злаковых трав.

## Литература

1. Глазунов В.А. Мятликовые // Большая российская энциклопедия: научно-образовательный портал [Электронный ресурс]. URL: <https://bigenc.ru/c/zlaki-809ee4/?v=9176688> (дата публикации: 04.12.2023).
2. Князева Т.В., Ульянов В.С. Луговое кормопроизводство : методические рекомендации. – Краснодар : КубГАУ, 2017. – 78 с.
3. Лукиных Г.Л., Луганская С.Н. Морфобиологическая характеристика многолетних злаковых трав, используемых для создания газонов в условиях Среднего Урала : метод. пособие для студентов очной и заочной форм обучения. – Екатеринбург : УГЛТУ, 2010. – 36 с.
4. Принципы организации территории кормовых угодий : учеб.-метод. пособие / А.С. Голубь [и др.]. – Ставрополь : СтГАУ, 2020 с. – 103.
5. Кутузова А.А. Лекции послевузовского образования по специальности 06.01.06 – луговое хозяйство, лекарственные и эфирно-масличные культуры. – М. : Угрешская типография, 2013. – 115 с.
6. Mavlyutov Yu.M., Kostenko, S.I., Shamustakimova A.O., Klimenko I.A. Genetic variability analysis of Russian cultivars of ryegrass (*Lolium*) based on SCoT markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2022, vol. 20, no. 1, p. 163.
7. Мавлютов Ю.М., Вертикова Е.А., Шамустакимова А.О., Клименко И.А. Изучение генетической структуры коллекции сортов райграса (*Lolium*) с использованием SSR- и SCoT-маркеров // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. – 2023. – Т. 184, №3. – С. 146–160.
8. Tabaripour R., Keshavarzi M. Interspecific Molecular Variation of *Lolium* L. Based on ISSR, SCoT and ITS. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 2021, vol. 45, pp. 1263–1272.
9. ГОСТ 12038-84. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести. – М. : Стандартинформ, 2011. – 31 с.
10. Эффективный способ выделения ДНК для ПЦР-анализа из «балк-образцов» проростков / И.А. Клименко, А.А. Антонов, В.А. Душкин, А.О. Шамустакимова, Ю.М. Мавлютов // Адаптивное кормопроизводство. – 2021. – № 3. – С. 29–48. URL: <http://www.adaptagro.ru>.
11. Collard B.C.Y., Mackill D.J. Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: A Simple, Novel DNA Marker Technique for Generating Gene-Targeted Markers in Plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2009, vol. 27, pp. 86–93.
12. Yeh F.C. POPGENE (version 1.3.1): Microsoft window-based freeware for population genetic analysis [Electronic resource]. Available at: <http://www.ualberta.ca/~fyeh/>. – 1999.
13. DARwin (version 6): Dissimilarity Analysis Representation for windows [Electronic resource]. Available at <https://darwin.cirad.fr/>. – 2014.
14. Rai M.K. Start codon targeted (SCoT) polymorphism marker in plant genome analysis: current status and prospects. *Planta*, 2023, vol. 257, no. 2, p. 34.



## References

1. Glazunov V.A. Myatlikovye [Bluegrass]. *Bol'shaya rossiyskaya entsiklopediya: nauchno-obrazovatel'nyy portal* [The Great Russian Encyclopedia: a scientific and educational portal]. URL: <https://bigenc.ru/c/zlaki-809ee4/?v=9176688>. (data of publication: 04.12.2023).
2. Knyazeva T.V., Ulyanov V.S. Lugovoe kormoproizvodstvo: metodicheskiye rekomendatsii [Meadow fodder production: methodological recommendations]. Krasnodar, KubSAU Publ., 2017, 78 p.
3. Lukinykh G.L., Luganskaya S.N. Morfobiologicheskaya kharakteristika mnogoletnikh zlakovykh trav, ispol'zuemykh dlya sozdaniya gazonov v usloviyakh Srednego Urala [Morphobiological characteristics of perennial grasses used to create lawns in the conditions of the Middle Urals]. Ekaterinburg, 2010, 36 p.
4. Golub A.S. et al. Printsipy organizatsii territorii kormovykh ugodiy [Principles of organization of the territory of forage lands]. Stavropol, 2020, p. 103.
5. Kutuzova A.A. Lektsii poslevuzovskogo obrazovaniya [Lectures of postgraduate education]. Moscow, Ugreshskaya tipografiya Publ., 2013, 115 p.
6. Mavlyutov Yu.M., Kostenko, S.I., Shamustakimova A.O., Klimenko I.A. Genetic variability analysis of Russian cultivars of ryegrass (*Lolium*) based on SCoT markers. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2022, vol. 20, no. 1, p. 163.
7. Mavlyutov Yu.M., Vertikova E.A., Shamustakimova A.O., Klimenko I.A. Izuchenie geneticheskoy struktury kolleksii sortov raygrasa (*Lolium*) s ispol'zovaniem SSR- i SCoT-markeroi [Genetic structure of the collection of ryegrass (*Lolium*) cultivars: a study based on SSR and SCoT markers]. *Proceedings on applied botany, genetics and breeding*. 2023, vol. 184, no. 3, pp. 146–160.
8. Tabaripour, R., Keshavarzi, M. Interspecific Molecular Variation of *Lolium* L. Based on ISSR, SCoT and ITS. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science*, 2021, vol. 45, pp. 1263–1272.
9. GOST 12038-84. Semena sel'skokhozyaystvennykh kul'tur. Metody opredeleniya vskhozhesti [Seeds of agricultural crops. Methods for determining germination]. Moscow, Standartinform Publ., 2011, 31 p.
10. Klimenko I.A., Antonov A.A., Dushkin V.A., Shamustakimova A.O., Mavlyutov Yu.M. Effektivnyy sposob vydeleniya DNK dlya PCR-analiza iz «balk-obraztsov» prorstkov [Efficient method of DNA isolation from bulking samples of seedlings]. *Adaptivnoe kormoproizvodstvo* [Adaptive fodder production], 2021, no. 3, pp. 29–48.
11. Collard B.C.Y., Mackill, D.J. Start Codon Targeted (SCoT) Polymorphism: A Simple, Novel DNA Marker Technique for Generating Gene-Targeted Markers in Plants. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2009, vol. 27, pp. 86–93.
12. Yeh F.C. POPGENE (version 1.3.1): Microsoft window-based freeware for population genetic analysis [Electronic resource]. Available at: <http://www.ualberta.ca/~fyeh/>. – 1999.
13. DARwin (version 6): Dissimilarity Analysis Representation for windows [Electronic resource]. Available at <https://darwin.cirad.fr/> – 2014.
14. Rai M.K. Start codon targeted (SCoT) polymorphism marker in plant genome analysis: current status and prospects. *Planta*, 2023, vol. 257, no. 2, p. 34.