

УДК 575.22

DOI 10.30679/2219-5335-2022-6-78-162-172

**ПРИМЕНЕНИЕ КОМБИНАЦИЙ
SCOT-МАРКЕРОВ
ДЛЯ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ
СОРТОВ ЯБЛОНИ***

Степанов Илья Владимирович
младший научный сотрудник
селекционно-биотехнологической
лаборатории
e-mail: ivsterpanof@gmail.com

Балапанов Ильнур Маликович
младший научный сотрудник
лаборатории сортоизучения
и селекции садовых культур
e-mail: i-balapanov@rambler.ru

Лободина Елена Вадимовна
младший научный сотрудник
селекционно-биотехнологической
лаборатории

Супрун Иван Иванович
канд. биол. наук
заведующий НЦ «Селекции
и питомниководства»
e-mail: supruni@mail.ru

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия*

Контроль сортовой чистоты посадочного материала является существенным фактором, влияющим на производительность садоводческих хозяйств. К современным методам контроля сортовой чистоты саженцев плодовых культур, обладающим перспективой внедрения в широкую практику, можно отнести SCoT-маркеры (Start Codon Targeted). В связи с чем, исходя из перспективности использования SCoT-маркеров в работах по идентификации растительного материала, была проведена работа по отбору эффективных комбинаций

UDC 575.22

DOI 10.30679/2219-5335-2022-6-78-162-172

**USING COMBINATIONS
OF SCOT-MARKERS
FOR APPLE VARIETIES
GENOTYPING***

Stepanov Ilya Vladimirovich
Junior Research Associate
of Breeding and Biotechnology
Laboratory
e-mail: ivsterpanof@gmail.com

Balapanov Ilnur Malikovich
Junior Research Associate
of Laboratory of Variety study
and Breeding of Garden Crops
e-mail: i-balapanov@rambler.ru

Lobodina Elena Vadimovna
Junior Research Associate
of Breeding and Biotechnology
Laboratory

Suprun Ivan Ivanovich
Cand. Biol. Sci.
Head of Breeding
and Nursery FSC
e-mail: supruni@mail.ru

*Federal State
Budget Scientific Institution
«North Caucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making»,
Krasnodar, Russia*

Control of varietal purity of planting material is a significant factor affecting the productivity of horticultural farms. SCoT markers (Start Codon Targeted) can be attributed to modern methods for monitoring the varietal purity of seedlings of fruit crops, which have the prospect of being introduced into wide practice. In this connection, based on the prospects of using SCoT markers in the identification of plant material, work was carried out to select effective combinations of SCoT markers.

* Инновационный проект выполнен при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках Конкурса научно-инновационных проектов, ориентированных на коммерциализацию № НИП-20.1/16

* The innovation project was carried out with the financial support of Kuban Science Foundation in the framework of the Commercializable scientific and innovation projects competition № SIP-20.1/16

SCoT-маркеров. Для повышения числа возможных вариантов маркирования был использован подход, основанный на создании маркеров из двух SCoT-праймеров. Целью данной работы был отбор комбинаций SCoT-маркеров, перспективных для ДНК-фингерпринтинга яблони, что в дальнейшем позволит использовать лучшие комбинации в идентификации посадочного материала. В работе представлены результаты оценки сочетаний SCoT-маркеров, для идентификации представителей рода *Malus*. 18 SCoT-маркеров на основе предварительной оценки были сгруппированы в 68 комбинаций. Отбор эффективных комбинаций маркеров осуществлялся по ряду необходимых критериев, таких как высокое качество ДНК-фингерпринтов и значительное количество полиморфных амплифицированных ДНК-фрагментов. Особенно значимы данные характеристики при генетической оценке близкородственных генотипов. Требования к качеству ДНК-фингерпринтов значительно повышаются, что обусловлено большим количеством идентичных ДНК-фрагментов. Около 45 % комбинаций были удачными и отобраны для дальнейших работ как перспективные. Апробация, проведённая в работе, дала возможность определить перспективные маркеры среди 68 задействованных в исследовании. Комбинации SCoT-праймеров, отобранных в данной работе, могут быть использованы в различных направлениях, включая генетическую идентификацию образцов, анализ генетической однородности растений, получаемых в процессе микроклонального размножения, а также для выполнения исследования по изучению генетических взаимосвязей образцов.

Ключевые слова: SCOT-МАРКЕРЫ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ, ЯБЛОНЯ, КОНТРОЛЬ СОРТОВОЙ ЧИСТОТЫ

An approach based on the creation of markers from two SCoT primers was used to increase the number of possible marking options. The aim of this work was to select combinations of SCoT markers that are promising for apple DNA fingerprinting, which in the future will allow the best combinations to be used in the identification of planting material. The paper presents the results of the evaluation of combinations of SCoT-markers to identify representatives of the genus *Malus*. The 18 SCoT markers were grouped into 68 combinations based on the preliminary assessment. The selection of effective combinations of markers was carried out according to a number of necessary criteria, such as the high quality of DNA fingerprints and a significant number of polymorphic amplified DNA fragments. These characteristics are especially significant in the genetic assessment of closely related genotypes. The requirements for the quality of DNA fingerprints increase significantly, due to the large number of identical DNA fragments. About 45 % of the combinations were successful and were selected for further work as promising. The approbation carried out in the work made it possible to identify promising markers among 68 used ones. Selected DNA markers can be useful in a variety of areas, including the genetic identification of accessions, the analysis of the genetic homogeneity of plants obtained through micropropagation, as well as for performing research on the study of the genetic relationships of accessions.

Key words: SCOT-MARKERS, IDENTIFICATION, APPLE TREE, CULTIVAR PURITY CONTROL

Введение. На современном этапе развития садоводческой практики остро встает проблема контроля соблюдения сортовой чистоты посадочного материала. Контроль сортовой чистоты может происходить на различных этапах возделывания садовой культуры: как на этапе производства посадочного материала в питомниках, так и в садовых насаждениях, непо-

средственно садоводческим хозяйством. Оценка сортовой чистоты на этапе возделывания культуры в промышленных насаждениях может проводиться самим предприятием или с привлечением внешних структур компетентных в данном вопросе, в частности профильных научных учреждений и служб из отраслевых органов контроля. Стоит отметить, что оценка посадочного материала на соответствие заявленному происхождению особенно важна при закупке импортного посадочного материала. Исходя из вышеизложенного, существует запрос на экспресс-метод, позволяющий идентифицировать сортовую принадлежность посадочного материала на разных стадиях развития плодового дерева.

К таким методам можно отнести ДНК-генотипирование с использованием генетических маркеров различной природы. На данный момент существует значительное количество различных ДНК-маркеров, обладающих специфическими сильными и слабыми сторонами в их применении (Goulao L. et al. 2001, Dar J. et al. 2019, Antonius-Klemola K. et al. 2006, Venturi S. et al. 2006, Cmejlova J. et al. 2021, Patzak J. et al. 2012) [1-6]. К относительно новым ДНК-маркерам можно отнести SCoT-маркеры (Start Codon Targeted). Они комплементарны области, сопутствующей стартовому кодону ATG в растительных генах. Данный тип маркеров был создан исследовательским коллективом Collard и Mackill и отражен в публикации 2009 года [7]. К преимуществам SCoT-маркирования можно отнести такие особенности данной маркерной системы, как стабильность при воспроизводстве результатов и значительное число ДНК-фрагментов, синтезируемых в процессе амплификации. Простота применения метода и низкая стоимость делают данный метод предпочтительным для лабораторий, ориентированных на использование электрофореза в агарозном геле (Chai et al. 2017) [8]. Так как SCoT-маркеры являются довольно новым подходом в генотипировании растений, количество работ проведенных с их использованием уступает более ранним и распространенным методам маркирования

таким как ISSR, RAPD и IRAP. Тем не менее, исходя из результатов, полученных в исследованиях с применением SCoT маркеров, они зарекомендовали себя как надежный подход в оценке популяционного разнообразия, а также при анализе генетического полиморфизма и установлении генетического родства исследуемых образцов (Poczaï et al. 2013; Etminan et al. 2016) [9, 10]. Применение SCoT маркеров на выборке из 64 генотипов винограда позволило установить 4 группы: столовые сорта *Vitis vinifera*; столовые сорта евро-американских гибридов; винные сорта *V. vinifera* и дикие виды *Vitis* (Guo et al. 2012) [11]. Тридцать шесть SCoT-маркеров были использованы для получения характеристики 48 образцов *Jatropha curcas* различного географического происхождения и отличающихся по составу эфирных масел, урожайности и содержанию масла в семенах. Оценка генетического разнообразия позволила разделить токсичные и нетоксичные образцы на две группы, а образцы *Jatropha curcas* из Мексики сформировали отдельный кластер (Mulpuri et al. 2013) [12]. Использование SCoT маркеров на образцах сборной ежи, позволило получить данные, коррелирующие со сведениями, полученными с использованием морфологических и агрономических данных (Zeng et al. 2014) [13]. Также SCoT маркеры были задействованы на видах, относящихся к родам *Andrographis* (Tiwari et al. 2016) [14], *Táxus* (Hao et al. 2018) [15], *Rosa* (Agarwal et al. 2018) [16], *Phoenix* (Saboori et al. 2019) [17], *Plantágo* (Rahimi et al. 2018) [18], *Pistácia* (Baghizadeh and Dehghan 2018) [19], *Tríticum* (Hamidi et al. 2014) [20].

Исходя из вышеизложенного, можно говорить о перспективности применения SCoT-маркеров в работах по идентификации растительного материала. Для повышения числа возможных вариантов маркирования, нами был использован подход, основанный на комбинации двух SCoT-праймеров. Таким образом, целью данной работы был отбор комбинаций SCoT маркеров, перспективных для ДНК-фингерпринтинга яблони, что в дальнейшем позволит использовать лучшие комбинации в идентификации посадочного материала.

Объекты и методы исследований. Для отработки эффективности комбинаций SCoT-праймеров в генотипирования яблони была использована тотальная ДНК сорта Голден Делишес.

В работе были задействованы 18 SCoT-праймеров, ранее отобранных из литературных источников для формирования 68 комбинаций. При этом в качестве первого праймера были взяты четыре SCoT-праймера, прежде показавшие хорошие результаты на генотипах яблони.

Согласно стандартным параметрам проведения SCoT генотипирования, ПЦР реакция проходила при следующих концентрациях реактивов ПЦР смеси: буферный раствор –1X, dNTP – 0,24 mM, Taq-полимераза – 1U, праймер – 0,32 мкМ, тотальная ДНК – 40 нг.

Температурные режимы ПЦР: 3 минуты начальной денатурации (94 °C); 42 цикла: 20 секунд денатурация, 30 секунд отжиг праймеров (50 °C), 2 минуты элонгации (72 °C); заключительная элонгация 10 минут (72 °C).

Электрофорез проводили при напряжении 150 В в течение часа, окраска агарозного геля осуществлялась бромистым этидием.

Обсуждение результатов. Для осуществления достоверного генотипирования с использованием мультилокусных ДНК-маркеров необходимо высокое качество ДНК-фингерпринтов и значительное количество полиморфных амплифицированных ДНК-фрагментов. При анализе близкородственных генотипов требования к качеству ДНК-фингерпринтов значительно повышаются вследствие большого количества идентичных ДНК-фрагментов. Недостоверная интерпретация результатов, выраженная в некорректной оценке размеров ДНК-фрагментов, может сильно затруднить проведение генетического анализа, нацеленного на идентификацию генотипа.

К факторам, приводящим к возникновению ошибок, можно отнести сильное фоновое свечение дорожки относительно слабо выраженного свечения ДНК-фрагмента.

В связи с этим, нами был проведен отбор SCoT маркеров, апробированных исходя из изложенных выше критериев. По каждому маркеру апробация была проведена в трехкратной повторности для максимальной достоверности оценки генотипирования (рис. 1-4).

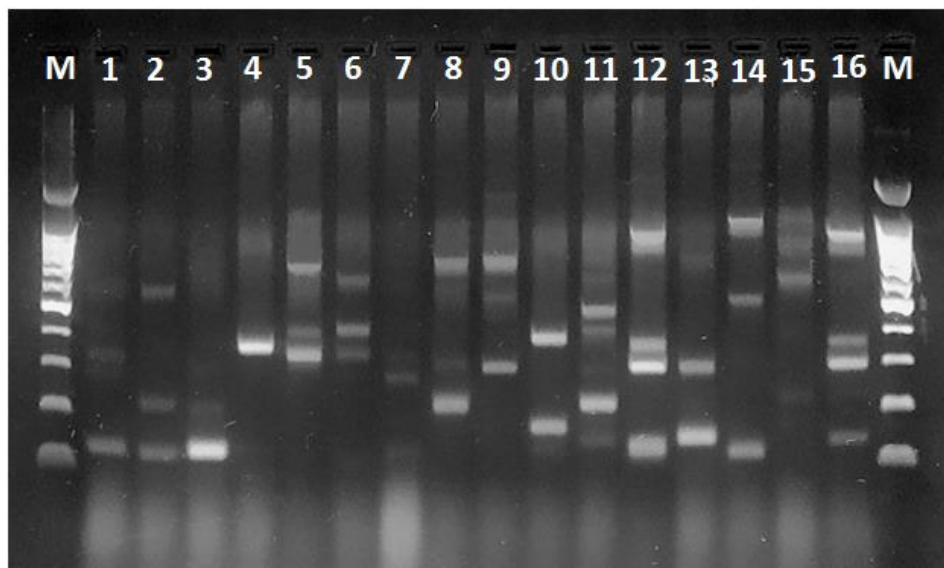


Рис. 1. SCoT 14 +: 1 - SCoT1, 2 - SCoT2, 3 - SCoT3, 4 - SCoT4, 5 - SCoT6, 6 - SCoT8, 7 - SCoT11, 8 - SCoT12, 9 - SCoT13, 10 - SCoT15, 11 - SCoT16, 12 - SCoT18, 13 - SCoT19, 14 - SCoT20, 15 - SCoT21, 16 - SCoT28, 17 - SCoT29, 18 - SCoT14

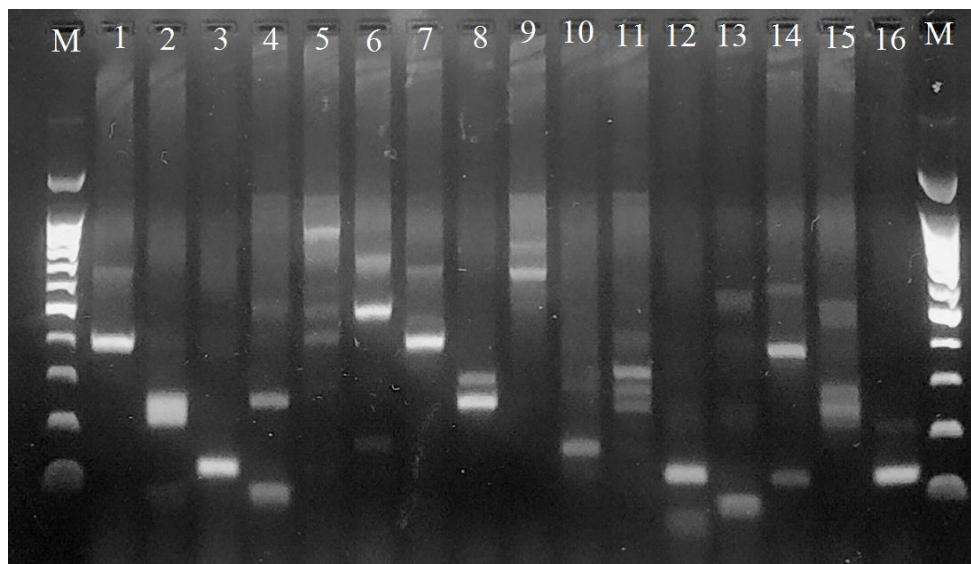


Рис. 2. SCoT 15 +: 1 - SCoT1, 2 - SCoT2, 3 - SCoT3, 4 - SCoT4, 5 - SCoT6, 6 - SCoT8, 7 - SCoT11, 8 - SCoT12, 9 - SCoT13, 10 - SCoT14, 11 - SCoT16, 12 - SCoT18, 13 - SCoT19, 14 - SCoT20, 15 - SCoT21, 16 - SCoT28, 17 - SCoT29, 18 - SCoT15

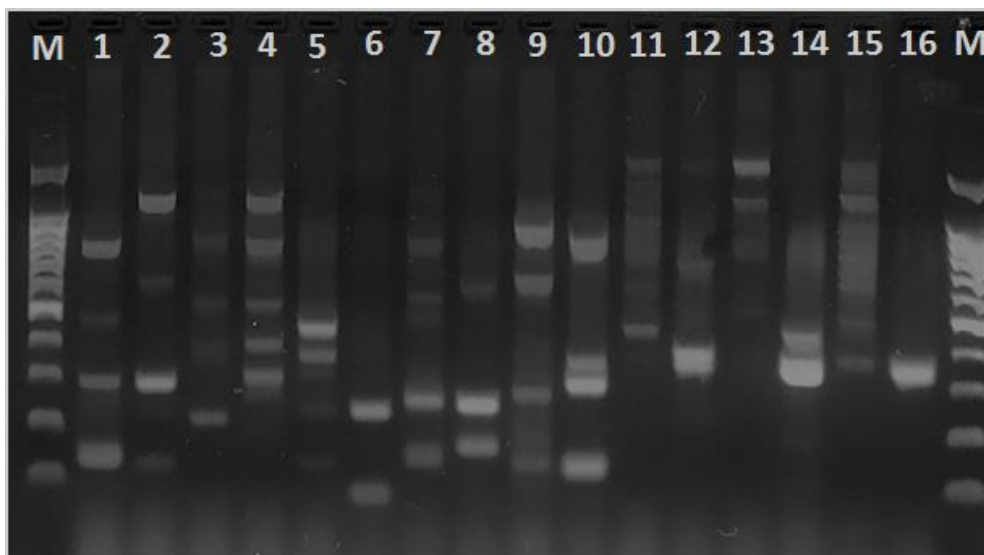


Рис. 3. SCoT 18 +: 1 - SCoT1, 2 - SCoT2, 3 - SCoT3, 4 - SCoT4, 5 - SCoT6, 6 - SCoT8, 7 - SCoT11, 8 - SCoT12, 9 - SCoT13, 10 - SCoT14, 11 - SCoT16, 12 - SCoT19, 13 - SCoT20, 14 - SCoT21, 15 - SCoT28, 16 - SCoT29, 17 - SCoT15, 18 - SCoT18

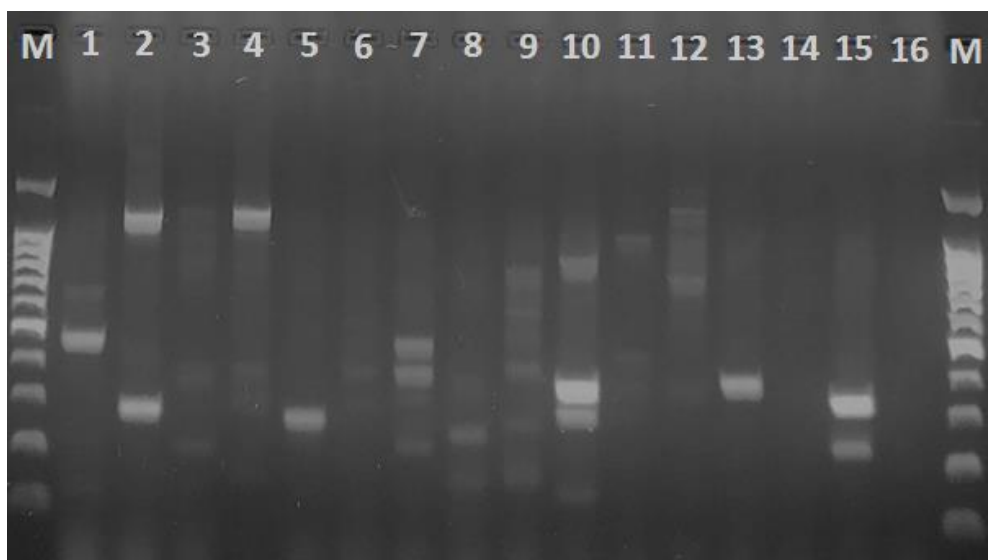


Рис. 4. SCoT 28 +: 1 - SCoT1, 2 - SCoT2, 3 - SCoT3, 4 - SCoT4, 5 - SCoT6, 6 - SCoT8, 7 - SCoT11, 8 - SCoT12, 9 - SCoT13, 10 - SCoT14, 11 - SCoT16, 12 - SCoT18, 13 - SCoT19, 14 - SCoT20, 15 - SCoT21, 16 - SCoT29, 17 - SCoT15, 18 - SCoT28

Был осуществлен отбор наиболее эффективных SCoT-маркеров для оценки генетического полиморфизма подвоев яблони. В ходе апробации 68 комбинаций маркеров установлено, что у большинства комбинаций маркеров (65) получены продукты амплификации (табл.). SCoT маркеры были разделены на 4 группы, исходя из количества полученных в результате генотипирования ДНК фрагментов.

Параметры комбинаций SCoT-маркеров

1 праймер	2 праймер	№ фрагментов	Диапазон продуктов ПЦР, п.н.	Группа, по качеству	1 праймер	2 праймер	№ фрагментов	Диапазон продуктов ПЦР, п.н.	Группа, по качеству
SCoT14	SCoT1	3	110-320	II	SCoT18	SCoT1	4	120-850	II
	SCoT2	3	100-600	II		SCoT2	4	120-1200	II
	SCoT3	2	100-200	III		SCoT3	4	200-890	II
	SCoT4	2	350-1000	III		SCoT4	5	300-1200	I
	SCoT6	3	320-710	II		SCoT6	5	120-450	I
	SCoT8	3	300-700	II		SCoT8	2	90-230	III
	SCoT11	2	250-300	III		SCoT11	4	130-890	II
	SCoT12	3	190-800	II		SCoT12	3	150-600	II
	SCoT13	3	290-810	II		SCoT13	4	120-950	II
	SCoT15	2	110-400	III		SCoT14	4	120-850	II
	SCoT16	5	130-750	I		SCoT16	2	470-1700	III
	SCoT18	5	120-990	I		SCoT19	1	380	III
	SCoT19	2	120-290	III		SCoT20	3	900-1700	II
	SCoT20	3	100-1000	II		SCoT21	2	320-450	III
	SCoT21	4	200-1000	II		SCoT28	3	350-1300	II
	SCoT28	5	120-1000	I		SCoT29	1	350	III
	SCoT29	1	120	III		SCoT15	2	120-150	III
SCoT15	SCoT1	2	400-700	III	SCoT28	SCoT1	2	450-690	III
	SCoT2	2	200-230	III		SCoT2	2	280-1100	III
	SCoT3	1	120	III		SCoT3	2	200-350	III
	SCoT4	3	90-500	II		SCoT4	1	1200	III
	SCoT6	4	400-1000	II		SCoT6	1	280	III
	SCoT8	2	500-800	III		SCoT8	0	-	IV
	SCoT11	2	400-700	III		SCoT11	3	200-450	II
	SCoT12	2	230-290	III		SCoT12	2	150-250	III
	SCoT13	2	700-900	III		SCoT13	6	150-800	I
	SCoT14	2	150-280	III		SCoT14	4	120-890	II
	SCoT16	4	230-400	II		SCoT16	1	1100	III
	SCoT18	2	50-120	III		SCoT18	2	800-1200	III
	SCoT19	4	90-580	II		SCoT19	1	350	III
	SCoT20	3	120-600	II		SCoT20	0	-	IV
	SCoT21	4	200-500	II		SCoT21	2	200-350	III
	SCoT28	2	120-200	III		SCoT29	0	-	IV
	SCoT29	1	90	III		SCoT15	1	120	III

В четвертую группу включили SCoT маркеры, у которых отсутствовали продукты амплификации. Маркеры, обладающие незначительным количеством ДНК-фрагментов и/или слабой интенсивностью свечения, затрудняющей оценку результатов, были включены в третью группу. К таким маркерам относятся: SCoT14 в сочетании с SCoT3, SCoT4, SCoT11, SCoT15, SCoT19, SCoT29; SCoT15 в сочетании с SCoT1, SCoT2, SCoT3, SCoT8, SCoT11, SCoT12, SCoT13, SCoT14, SCoT18, SCoT28, SCoT29; SCoT18 в сочетании с SCoT8, SCoT16, SCoT19, SCoT21, SCoT29, SCoT15; SCoT28 в сочетании с SCoT1, SCoT2, SCoT3, SCoT4, SCoT6, SCoT12, SCoT16, SCoT18, SCoT19, SCoT21, SCoT15.

SCoT маркеры, отличающиеся средним количеством ДНК-фрагментов и легко интерпретируемым спектром амплифицированных продуктов ПЦР, вошли во вторую группу. К этой группе отнесены: SCoT14 в сочетании с SCoT1, SCoT2, SCoT6, SCoT8, SCoT12, SCoT13, SCoT20, SCoT21; SCoT15 в сочетании с SCoT4, SCoT6, SCoT16, SCoT19, SCoT20, SCoT21; SCoT18 в сочетании с SCoT1, SCoT2, SCoT3, SCoT11, SCoT12, SCoT13, SCoT14, SCoT20, SCoT28; SCoT28 в сочетании с SCoT11, SCoT14. Их применение в дальнейшей работе по анализу генетического разнообразия подвоев является приемлемым.

В первую группу изученных маркеров были включены: SCoT14 в сочетании с SCoT16, SCoT18, SCoT28; SCoT18 в сочетании с SCoT4, SCoT6; SCoT28 в сочетании с SCoT13. Для них характерно значительное количество фрагментов ДНК, качество фингерпринтов позволяет определить их в группу приоритетных маркеров.

Наибольшее количество сочетаний маркеров, вошедших в первые две группы, отмечено при применении в качестве первого праймера SCoT14 и SCoT18. Каждый из них имеет по 11 удачных сочетаний, результаты амплификации которых отнесены в первые две группы. Использование в качестве первого праймера SCoT15 принесло меньше удачных комбинаций –

6 из них вошли во вторую группу. Наименее удачными были комбинации SCoT28 с другими праймерами, только 3 из них вошли в первые две группы.

Использование сочетаний SCoT маркеров является перспективным, так как позволяет существенным образом разнообразить полученные результаты, при этом позволяя сделать их более легкими в интерпретации. Около 45 % (31) из 68 сочетаний маркеров оказались удачными.

Выводы. Проведённая в работе апробация позволила определить перспективные маркеры среди 68 использованных. Отобранные ДНК-маркеры могут быть эффективны в различных областях, включая генетическую идентификацию образцов, анализ генетической однородности растений, получаемых в процессе микрклонального размножения, а также для выполнения исследования по изучению генетических взаимосвязей образцов.

Литература

1. Goulao L., Oliveira, C. Molecular characterisation of cultivars of apple (*Malus × domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers // *Euphytica*. – 2001. – Т. 122 - №1 - С. 81-89.
2. Dar J., Wani A. A., Dhar, M K. Assessment of Apple (*Malus × Domestica* Bark.) Germplasm of Kashmir Using RAPD // *Markers July International Journal of Fruit Science* - 2019. - Т.20 - №1 - С. 1-11.
3. Antonius-Klemola K, Kalendar R, Schulman A.H. TRIM retrotransposons occur in apple and are polymorphic between varieties but not sports // *Theor Appl Genet*. – 2006. - Т.112 - № 6 - С. 999-1008.
4. Venturi S, Dondini L, Donini P, Sansavini S. Retrotransposon characterisation and fingerprinting of apple clones by S-SAP markers // *Theor Appl Genet*. – 2006. - Т. 112 - № 3 - С. 440-444.
5. Cmejlova J, Rejlova M, Paprstein F, Cmejla R. A new one-tube reaction kit for the SSR genotyping of apple (*Malus × Domestica* Borkh.) // *Plant Sci*. – 2021. - Т. 303 - С. 11076-11078.
6. Patzak J, Paprštejn F, Henychová A, Sedlák J. Comparison of genetic diversity structure analyses of SSR molecular marker data within apple (*Malus × Domestica*) genetic resources // *Genome*. – 2012. - Т. 55(9) - С. 647-665.
7. 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. – Т. 27. – №. 1. – С. 86-93.

8. Chai X. et al. Optimizing sample size to assess the genetic diversity in common Vetch (*Vicia sativa* L.) populations using Start Codon Targeted (SCoT) markers // *Molecules*. – 2017. – Т. 22. – №. 4. – С. 567.
9. Poczai P. et al. Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review // *Plant methods*. – 2013. – Т. 9. – №. 1. – С. 1-32.
10. Etminan A. et al. Applicability of start codon targeted (SCoT) and inter-simple sequence repeat (ISSR) markers for genetic diversity analysis in durum wheat genotypes // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. – 2016. – Т. 30. – №. 6. – С. 1075-1081.
11. Guo D. L., Zhang J. Y., Liu C. H. Genetic diversity in some grape varieties revealed by SCoT analyses // *Molecular biology reports*. – 2012. – Т. 39. – №. 5. – С. 5307-5313.
12. Mulpuri S., Muddanuru T., Francis G. Start codon targeted (SCoT) polymorphism in toxic and non-toxic accessions of *Jatropha curcas* L. and development of a codominant SCAR marker // *Plant science*. – 2013. – Т. 207. – С. 117-127.
13. Zeng B. et al. Genetic diversity of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) germplasms with resistance to rust diseases revealed by Start Codon Targeted (SCoT) markers // *Biochem Syst Ecol*. – 2014. – Т. 54. – С. 96-102.
14. Tiwari G. et al. Study of arbitrarily amplified (RAPD and ISSR) and gene targeted (SCoT and CDDP) markers for genetic diversity and population structure in Kalmegh [*Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees] // *Industrial Crops and Products*. – 2016. – Т. 86. – С. 1-11.
15. Hao J. et al. Development of SCoT-based SCAR marker for rapid authentication of *Taxus media* // *Biochemical genetics*. – 2018. – Т. 56. – №. 3. – С. 255-266.
16. Agarwal A. et al. Assessment of genetic diversity in 29 rose germplasms using SCoT marker // *Journal of King Saud University-Science*. – 2019. – Т. 31. – №. 4. – С. 780-788.
17. Saboori S. et al. SCoT molecular markers and genetic fingerprinting of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars // *Genetic Resources and Crop Evolution*. – 2020. – Т. 67. – №. 1. – С. 73-82.
18. Rahimi M. et al. SCoT marker diversity among Iranian *Plantago* ecotypes and their possible association with agronomic traits // *Scientia Horticulturae*. – 2018. – Т. 233. – С. 302-309.
19. Baghizadeh A., Dehghan E. Efficacy of SCoT and ISSR markers in assessment of genetic diversity in some Iranian pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars // *Pistachio and Health Journal*. – 2018. – Т. 1. – №. 1. – С. 37-43.
20. Hamidi H., Talebi R., Keshavarzi F. Comparative efficiency of functional gene-based markers, start codon targeted polymorphism (SCoT) and conserved DNA-derived polymorphism (CDDP) with ISSR markers for diagnostic fingerprinting in wheat (*Triticum aestivum* L.) // *Cereal research communications*. – 2014. – Т. 42. – №. 4. – С. 558-567.