



УДК 58.073

Генетический полиморфизм в популяциях *Hieracium × robustum* (Asteraceae) как результат деятельности фитофага-галлообразователя *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae)



Т. А. Крицкая, А. С. Кашин, В. В. Аникин, М. И. Никельшпарг

Крицкая Татьяна Алексеевна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и цитогенетики, Учебно-научный центр «Ботанический сад», Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kritckaiata@gmail.com

Кашин Александр Степанович, доктор биологических наук, профессор кафедры генетики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kashinas2@yandex.ru

Аникин Василий Викторович, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры морфологии и экологии животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, anikinvasiliiv@mail.ru

Никельшпарг Матвей Ильич, ученик МАОУ «Гимназия № 3» г. Саратова, matveynikel@yandex.ru

С помощью генетических межмикросателлитных маркеров (ISSR) изучен полиморфизм в популяциях *Hieracium × robustum* (Asteraceae) – растения-хозяина галлообразователя *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera, Cynipidae). В каждой популяции анализировали растения *H. × robustum* со стеблевыми галлами орехотворки и без них. Установлено, что у отдельно взятых особей без галлов ISSR-фрагментов было в два раза меньше по сравнению с растениями, поврежденными орехотворкой. Все они имели четкий паттерн в агарозном геле, в то время как паттерны особей с галлами были хаотичны. Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) также показал, что значительная доля дисперсии обусловлена вариабельностью фрагментов, полученных от особей с галлами. Кластерный анализ (UPGMA) достоверно разделил всю исследуемую выборку на два кластера. Первый кластер объединил особи *H. × robustum* с галлами, второй – особи без галлов. При отдельном анализе только особей без галлов выборка разбивается на кластеры в полном соответствии с географическим происхождением образцов. Включение же в матрицу фрагментов, полученных от растений с галлами орехотворки, привело к значительному искажению и бессистемности результатов.

Ключевые слова: ISSR, стеблевые галлы, орехотворка, контаминация ДНК.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-357-363>

Растения и насекомые сосуществуют на Земле более 350 млн лет. В ходе коэволюции и те и другие стараются избежать защитных систем друг друга. Эта эволюционная «гонка воору-

жений» привела к развитию у растений тонко организованной защитной системы, способной распознавать чужеродные молекулы и специфические сигналы от клеток, поврежденных насекомыми [1, 2].

Повреждение фитофагами вызывает в растении незамедлительную экспрессию генов, отвечающих за фотосинтез, электронный транспорт, цитоскелет, метаболизм углерода и азота, сигнальную систему, а также группы генов, реагирующих на стресс, ранение или вторжение патогенов, и как следствие, полную функциональную реорганизацию транскрипции [3]. Чтобы противостоять атаке фитофагов, растения образуют специализированные морфологические структуры или вторичные метаболиты и белки, вызывающие отталкивающие и токсические эффекты [4]. Насекомые, в свою очередь, вынуждены изменять свой метаболизм, чтобы обойти защитную систему растений. Одним из путей преодоления иммунитета растений является синтез симбиотической микрофлоры насекомого полезных для растения веществ [5], таких как гормоноподобные регуляторы роста.

На примере популяций ястребинки мочковатой (*Hieracium × robustum* Fr.) из Саратовской области было показано, что растения со стеблевыми галлами, образованными в результате жизнедеятельности фитофага-галлообразователя *Aulacidea hieracii* из отряда перепончатокрылых (Hymenoptera, Cynipidae), отличались увеличением массы вегетативных органов и большим количеством соцветий по сравнению с растениями, не имеющими галлов [6]. Однако присутствие во всех изученных популяциях *H. × robustum* определенной доли растений, не поврежденных орехотворкой, позволяет предполагать наличие качественных различий между растениями в популяции и возможной микроэволюции таксона.

В данной работе мы попытались оценить внутри- и межпопуляционные различия между растениями *H. × robustum* со стеблевыми галлами орехотворки и без них с помощью генетических межмикросателлитных маркеров (ISSR), хорошо



зарекондовавших себя в большом количестве популяционных исследований представителей трибы Cichorieae семейства Asteraceae.

Сбор материала проводили в трех естественных популяциях *H. × robustum*: в окрестностях пос. Юбилейный в Волжском районе г. Саратова (6 образцов: 3 – с галлами, 3 – без галлов), лесопарка «Кумысная поляна» в Заводском районе г. Саратова (2 образца: 1 – с галлами, 1 – без галлов) и с. Ягодная Поляна Татищевского района Саратовской области (2 образца: 1 – с галлами, 1 – без галлов). Особи *H. × robustum* со стеблевыми галлами орехотворки и без галлов гербаризировали и хранили до начала исследования отдельно друг от друга.

ДНК выделяли из язычковых цветков соцветия без признаков механического повреждения с помощью коммерческих наборов DiaGene (Bio Silica, Новосибирск) на колонках согласно протоколу производителя. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе Mastercycler gradient (Eppendorf, Germany) с 12 ISSR-праймерами (табл. 1), синтезированными НПК «Синтол» (Москва). Выбор праймеров производили с учетом уже имеющихся литературных данных по другим родам трибы Cichorieae семейства Asteraceae [7, 8]. Для приготовления реакционной смеси были использованы реактивы Ready-To-Load Master-mix 5X Mas^{DD}TaqMIX-2025 (Диалат Лтд., Москва).

Таблица 1 / Table 2

ISSR праймеры, амплифицирующие информативные фрагменты ДНК *H. × robustum*
ISSR primers producing informative DNA fragments of *H. × robustum*

Название праймера / Primer code	Последовательность 5'-3'/ Sequence 5'-3'	Количество полиморфных фрагментов / Number of polymorphic loci	
		Все образцы / All specimen	Образцы без галлов / Specimen without galls
ISSR 3	(AG) ₉ C	17	8
ISSR 4	(AC) ₉ G	20	7
ISSR 5	(AC) ₈ CG	37	16
ISSR 18	(ACTG) ₅	21	11
“Aster”	(TG) ₈ RC	14	6
UBC 810	(GA) ₈ T	26	14
UBC 811	(GA) ₈ C	25	12
UBC 813	(CT) ₈ T	16	6
UBC 834	(AG) ₈ YT	29	14
UBC 835	(AG) ₈ YC	11	5
UBC 841	(GA) ₈ YC	15	8
UBC 843	(CT) ₈ RA	19	3
Всего:		250	110

Примечание. R = A, G; Y = C, T.

Note. R = A, G; Y = C, T.

Разделение продуктов амплификации проводили электрофоретически в 1.5%-ном агарозном геле. Фрагменты ДНК визуализировали с помощью трансиллюминатора (Vilber Lourmat, Франция) и фотографировали с помощью геледокументирующей системы (Doc-print VX2, Германия). Типирование ISSR фрагментов было представлено в виде матрицы наличия или отсутствия фрагментов, закодированных как «1» или «0» соответственно.

Итоговая матрица включала 250 ISSR фрагментов, амплифицированных из 10 образцов из трех популяций. Анализ полученной матрицы проводили в программе PAST ver. 3.0. [9] кластеризацией методом невзвешенного попарно-

группового среднего (UPGMA) с использованием коэффициента Жаккара. Оценку генетической дифференциации исследованных выборок проводили в программе Arlequin ver. 3.5 [10] с помощью анализа молекулярной дисперсии (AMOVA).

Всего в результате ПЦР с 12 ISSR праймерами получено 250 полиморфных фрагментов, их длина варьировала в пределах от 200 до 3000 пн. Согласно результатам AMOVA, при разбиении всей выборки на три группы в соответствии с их географическим происхождением около 90% дисперсии приходится на внутривидовые различия, а именно различия между особями с галлами и без галлов. Межпопуляционная дисперсия в данном случае недостоверна (табл. 2).

Результаты анализа молекулярной дисперсии (АМОВА) популяций *H. × robustum*АМОВА results for populations *H. × robustum*

Изменчивость / Variability	d. f.	Сумма квадратов / Sum of squares	Доля дисперсии, % / % of variation
Три группы согласно географическому положению / Grouping of the populations according to their geographical position			
Между группами / Between the groups	2	111.07	10.86 ^{ns}
Внутри групп / Between the populations within the group	7	289.83	89.14
Две группы: с галлами орехотворки и без галлов / Two groups: with galls and without galls			
Между группами / Between the groups	1	119.30	32.33 ^{***}
Внутри групп / Between the populations within the group	8	281.60	67.67

Примечание. Уровни достоверности определены на основании 1000 пермутаций матрицы; *** p (наблюдаемая величина \geq случайная величина) ≤ 0.0001 ; ^{ns} – не достоверно.

Note. The statistical significance levels were determined on the basis of 1000 permutations of the matrix; *** p (observed value \geq random value) ≤ 0.0001 ; ns – not significant.

У отдельно взятых особей без галлов маркеров было в 2 раза меньше (см. табл. 1). При разбиении всей выборки на две группы, первая из которых представлена только особями без галлов, а вторая только особями с галлами, независимо от географического происхождения результаты АМОВА оказались высоко достоверными ($p < 0.0001$). При этом преобладающая доля дисперсии осталась на уровне внутригрупповой

изменчивости (см. табл. 2). Из рис. 1 видно, что особи популяции из пос. Юбилейный без галлов имеют четкий паттерн в агарозном геле и полностью идентичны друг другу, в то время как паттерны особей с галлами орехотворки хаотичны. Очевидно, что значительная доля внутригрупповой дисперсии обусловлена главным образом вариабельностью фрагментов, полученных от особей с галлами.

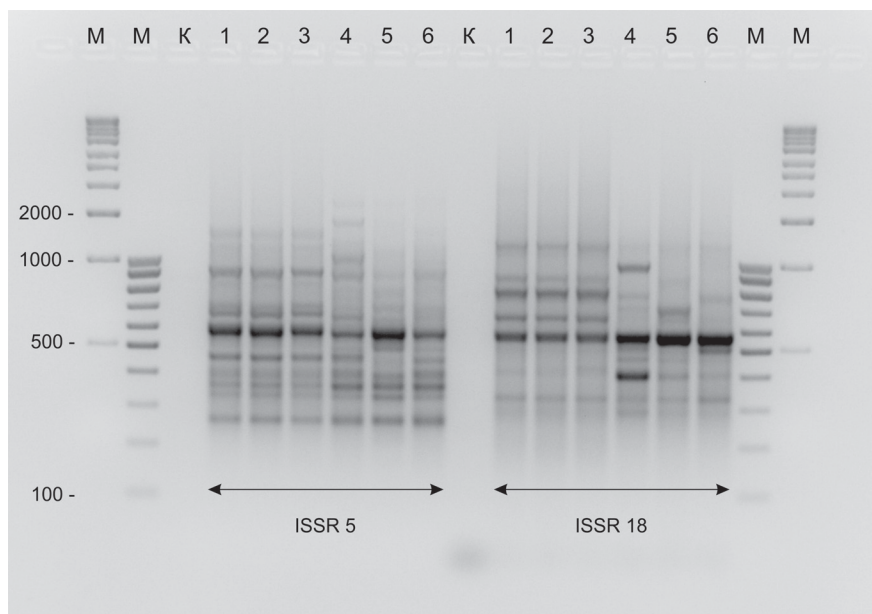


Рис. 1. Результат электрофореза фрагментов ДНК, полученных при использовании праймеров ISSR5 и ISSR18 для популяции *H. × robustum* в окр. пос. Юбилейный Саратовской области: М – маркер молекулярного веса; К – отрицательный контроль; 1–3 – особи без галлов; 4–6 – особи с галлами

Fig. 1. The result of electrophoresis of DNA fragments obtained using the primers ISSR5 and ISSR18 for the population of *H. × robustum* in the vicinity of the village of Yubileiny Saratov region: M – molecular weight marker; K – negative control; 1–3 – individuals without galls; 4–6 – individuals with galls



Кластерный анализ (UPGMA) достоверно разделил исследуемую выборку на два кластера (рис. 2, а). Первый кластер объединил особи *H. × robustum* с галлами, второй – особи без галлов. Внутри первого кластера высокую бутстреп поддержку (100%) получили два кластера тре-

тьего порядка, в один из которых вошли образцы популяций с Кумысной поляны и из Ягодной Поляны, в другой – образцы из пос. Юбилейный. Внутри второго кластера обособленным является лишь образец из Ягодной Поляны, в то время как остальные узлы поддержки не имеют.

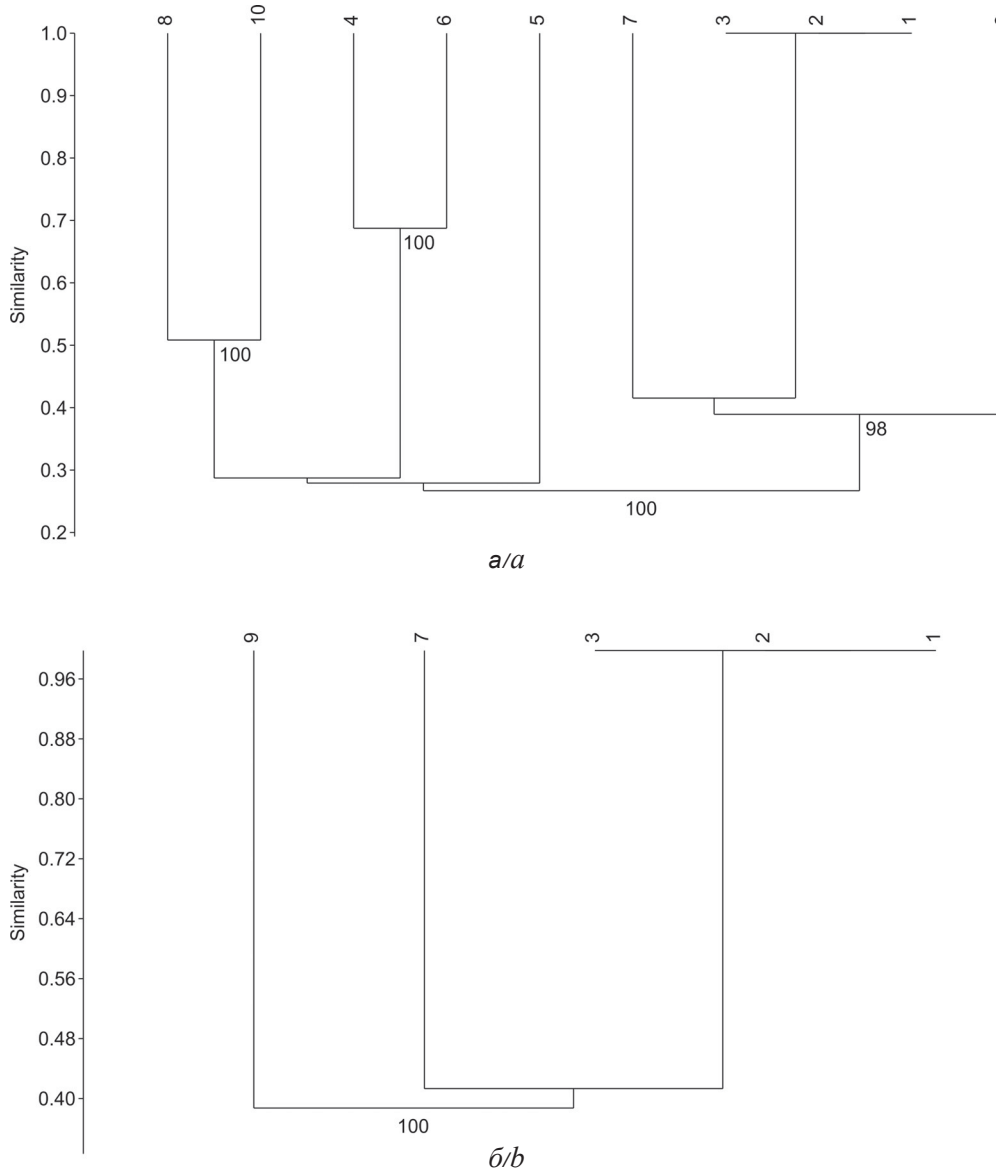


Рис. 2. UPGMA-дендрограмма, построенная на основе ISSR данных для *H. × robustum* с использованием коэффициента Жаккара: а – результат кластеризации всех образцов, включенных в сравнительный анализ; б – результат кластеризации только образцов растений без галлов. Бутстреп = 100 реплик. 1–6 – особи популяции в окрестностях пос. Юбилейный г. Саратова (1–3 – без галлов, 4–6 – с галлами); 7–8 – особи популяции лесопарка «Кумысная поляна» г. Саратова (7 – без галлов, 8 – с галлами); 9–10 – особи популяции с. Ягодная Поляна Саратовской области (9 – без галлов, 10 – с галлами)

Fig. 2. UPGMA-dendrogram built on the basis of ISSR data for *H. × robustum*, using the Jaccard coefficient: а – the result of clustering all samples included in the comparative analysis; б – the result of clustering only samples of plants without galls. Bootstrap = 100 replicas. 1–6 – individuals of the population in the vicinity of the Yubileiny village of Saratov (1–3 without galls, 4–6 with galls); 7–8 – individuals of the “Kumysnaya Polyana” forest park of the city of Saratov (7 without galls, 8 with galls); 9–10 – individuals of the population of the village Yagodnaya Polyana, Saratov region (9 – without galls, 10 – with galls)



При отдельном анализе только особей без галлов выборка также разбивается на два кластера, первый из которых представлен образцом из Ягодной Поляны, второй – объединенными образцами из популяций пос. Юбилейный и Кумысной поляны (рис. 2, б). То есть полученная дендрограмма топологически идентична второму кластеру общей дендрограммы на рис. 2, а. В отличие от общей, эта дендрограмма позволяет визуализировать вполне прогнозируемый и легко интерпретируемый результат.

Популяции пос. Юбилейный и Кумысной поляны разделяет расстояние всего около 10 км, и препятствия для потока генов между ними отсутствуют. Генетическая идентичность особей популяции в пос. Юбилейный может быть объяснима формированием популяции в результате единичного заноса семян на эту территорию с последующим клоновым характером воспроизводства. Обособленность популяции из Ягодной Поляны обусловлена, по-видимому, ее относительной географической удаленностью, более чем на 50 км, как от популяции пос. Юбилейный, так и от популяции Кумысной поляны.

Включение же в матрицу паттернов, полученных от растений с галлами орехотворки, привело к значительному искажению и бессистемности результатов. Можно выдвинуть все альтернативные гипотезы, объясняющие причины этого искажения.

Гипотеза 1. Несмотря на то что для проведения ПЦР отбирались неповрежденные части растения, в анализе участвовала чужеродная ДНК. Учитывая то, что ISSR маркеры успешно используются для популяционно-генетических исследований различных групп насекомых [11–13], есть все основания предположить, что чужеродная ДНК принадлежит орехотворке и, очевидно, циркулирует по проводящей системе растения. В этом случае полученные нами результаты подтверждают общеизвестные рекомендации, согласно которым недопустимо отбирать растения со следами повреждения животными для популяционно-генетических исследований [14]. Так как сама орехотворка является средой обитания различных симбиотических микроорганизмов, которые попадают в организм растения с ее выделениями и продуктами жизнедеятельности, а механические повреждения тканей растения, вызванные ею, являются воротами для различных вирусов и бактерий, ДНК растения со стеблевыми галлами следует рассматривать как метагеном и применять соответствующие методы для его изучения.

Гипотеза 2. Своеобразие ISSR паттернов растений с галлами может быть связано с изменением сайтов узнавания праймера в результате модификации ДНК. В этом случае сама орехотворка или ее симбиотическая микрофлора является источником транспозонов, способных внедряться в геном растения и служить источником новых факторов транскрипции [15], обуславливающих увеличение количества и массы всех органов, которое наблюдалось у пораженных орехотворкой растений *H. × robustum* [6].

Таким образом, насекомое-галлообразователь *A. hieracii* значительно искажает результаты исследования генома растения-хозяина *H. × robustum*. Причины этого искажения спорны. Тем не менее выбранные объекты представляют собой удобную модель для дальнейших исследований, способных пролить свет на понимание молекулярных механизмов взаимодействия фитофага-галлообразователя и растения-хозяина, а также на роль галлообразователей в адаптивной эволюции покрытосеменных растений.

Список литературы

1. Howe G. A., Jander G. Plant immunity to insect herbivores // Annual Review of Plant Biology. 2008. Vol. 59. P. 41–66. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825
2. Verhage A., Wees S. C. M. van, Pieterse C. M. J. Plant immunity: it's the hormones talking, but what do they say? // Plant Physiology. 2010. Vol. 154. P. 536–540. DOI: 10.1104/pp.110.161570
3. Hermsmeier D., Schittko U., Baldwin I. T. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*: I. Large-scale changes in the accumulation of growth- and defense-related plant mRNAs // Plant Physiology. 2001. Vol. 125. P. 683–700. DOI: 10.1104/pp.125.2.683
4. Giri A. P., Wünsche H., Mitra S., Zavala J. A., Muck A., Svatoš A., Baldwin I. B. Molecular Interactions between the Specialist Herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and Its Natural Host *Nicotiana attenuata*. VII. Changes in the Plant's Proteome // Plant Physiology. 2006. Vol. 142. P. 1621–1641. DOI: 10.1104/pp.106.088781
5. Конарев А. В. Молекулярные аспекты иммунитета растений и их коэволюции с насекомыми // Биосфера. 2017. Т. 9, № 1. С. 79–99.
6. Аникин В. В., Никельштаг М. И. Эффект увеличения числа листьев на растениях *Hieracium × robustum* (Asteraceae) при их заселении галлообразователем *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Сynipidae) // Бюл. Бот. сада Сапат. гос. ун-та. 2018. Т. 16, вып. 4. С. 49–54.
7. Ryu J., Bae C.-H. Genetic diversity and relationship analysis of genus *Taraxacum* accessions collected in Korea // Korean Journal of Plant Resources. 2012. Vol. 25, № 3. P. 329–338.



8. *Kashin A. S., Kriczak T. A., Popova A. O., Parhomenko A. S.* Генетическая дифференциация видов *Chondrilla* (Asteraceae) Европейской части России по данным ISSR-маркирования // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. 2017. Т. 122, вып. 1. С. 60–70
9. *Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D.* PAST : Palaeontologica Statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica*. 2001. Vol. 4, № 1. P. 9.
10. *Excoffier L., Lischer H. E. L.* Arlequin suite ver 3.5 : A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // *Molecular Ecology Resources*. 2010. Vol. 10. P. 564–567.
11. *Grasela J. J., Mcintosh A. H.* Application of Inter-Simple Sequence Repeats to insect cell lines: identification at the clonal and tissue-specific level // *In vitro Cellular and Developmental Biology – Animal*. 2003. Vol. 39. P. 353–363.
12. *Shouhani H., Dousti A., Radjabi R., Zarei M.* Application of ISSR to study the genetic diversity of honeybee (*Apis mellifera* L.) populations in some areas of Iran // *Journal of Bioscience and Biotechnology*. 2014. Vol. 3, № 2. P. 127–131.
13. *Xie J.-N., Guo J.-J., Jin D.-C., Wang X.-J.* Genetic Diversity of *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) in China Detected by Inter-Simple Sequence Repeats // *Journal of Insect Science*. 2014. Vol. 14, № 233. DOI: 10.1093/jisesa/ieu095
14. *Куцев М. Г.* Фрагментный анализ ДНК растений : RAPD, DAF, ISSR. Барнаул : АРТИКА, 2009. 164 с.
15. *Biémont C., Vieira C.* Genetics : junk DNA as an evolutionary force // *Nature*. 2006. Vol. 443, № 7111. P. 521–524.

Образец для цитирования:

Крицкая Т. А., Кашин А. С., Аникин В. В., Никельшпарг М. И. Генетический полиморфизм в популяциях *Hieracium × robustum* (Asteraceae) как результат деятельности фитофага-галлообразователя *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae) // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 357–363. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-357-363>

Genetic Polymorphism in Populations of *Hieracium × robustum* (Asteraceae) as Result of the Hallabrottel *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae) Influence

T. A. Kritskaya, A. S. Kashin, V. V. Anikin, M. I. Nikelshparg

Tatyana A. Kritskaya, <https://orcid.org/0000-0003-0181-3022>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kritckaiata@gmail.com

Alexandr S. Kashin, <https://orcid.org/0000-0002-2342-2172>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kashinas2@yandex.ru

Vasily V. Anikin, <https://orcid.org/0000-0001-8575-5418>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, anikinvasiliv@mail.ru

Matvey I. Nikelshparg, Municipal Educational Institution “Gymnasium № 3” of Saratov, 121 Bolshaya Kazach'ya St., Saratov 410012, Russia, matveynikel@yandex.ru

Based on Inter Simple Sequence Repeats (ISSR), we examined polymorphism in populations of *Hieracium × robustum* (Asteraceae) – the host of gall-making *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera, Cynipidae). In each population, we studied *H. × robustum* specimens with and without stem galls induced by gall wasps. It was revealed that individual gall-free plants have half as much ISSR fragments as plants contaminated by galls. In agarose gel, ISSR fragments of the former have clear-cut patterns while patterns of gall-contaminated plants are shapeless. Also, molecular dispersion analysis (AMOVA) shows that a significant proportion of dispersion is due to the variability of fragments obtained from gall-contaminated specimens. Cluster analysis (UPGMA) subdivides the sample into two clusters. The first was constituted by

H. × robustum specimens with galls; the second comprised gall-free specimens. When cluster analysis was carried out exclusively on gall-free specimens, the obtained clusters were in complete correspondence with the geographic origins of the specimens. However, when fragments of gall-contaminated plants were added to the matrix, it distorted the analysis and gave inconsistent results.

Key words: ISSR, stem galls, gall wasp, DNA contamination.

References

1. Howe G. A., Jander G. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, vol. 59, pp. 41–66. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825
2. Verhage A., van Wees S. C. M., Pieterse C. M. J. Plant immunity: it's the hormones talking, but what do they say? *Plant Physiology*, 2010, vol. 154, pp. 536–540. DOI: 10.1104/pp.110.161570
3. Hermsmeier D., Schittko U., Baldwin I. T. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*: I. Large-scale changes in the accumulation of growth- and defense-related plant mRNAs. *Plant Physiology*, 2001, vol. 125, pp. 683–700. DOI: 10.1104/pp.125.2.683
4. Giri A. P., Wünsche H., Mitra S., Zavala J. A., Muck A., Svatoš A., Baldwin I. B. Molecular Interactions between the Specialist Herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and Its Natural Host *Nicotiana attenuata*. VII. Changes in the Plant's Proteome. *Plant Physiology*, 2006, vol. 142, pp. 1621–1641. DOI: 10.1104/pp.106.088781
5. Konarev A. V. Molecular aspects of plant immunity and their coevolution with insects. *Biosfera*, 2017, vol. 9, no. 1, pp. 79–99 (in Russian). DOI: 10.24855/biosfera.v9i1.325



6. Anikin V. V., Nikelshparg M. I. The effect of increasing the number of leaves on plants *Hieracium × robustum* (Asteraceae) at their settling by gall-former *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae). *Bulletin of Botanic Garden of Saratov State University*, 2018, vol. 16, no. 4, pp. 49–54 (in Russian). DOI: 10.18500/1682-1637-2018-4-49-54
7. Ryu J., Bae C.-H. Genetic diversity and relationship analysis of genus *Taraxacum* accessions collected in Korea. *Korean Journal of Plant Resources*, 2012, vol. 25, no. 3, pp. 329–338. DOI: 10.7783/KJMCS.2011.19.3.149
8. Kashin A. S., Kritskaya T. A., Popova A. O., Parkhomenko A. S. ISSR analysis of genetic diversity of *Chondrilla* species (Asteraceae) in European part of Russia. *Bulletin of Moscow Society of Naturalists. Biological series*, 2017, vol. 122, no. 1, pp. 60–70 (in Russian).
9. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Palaeontologica Statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 2001, vol. 4, no. 1, pp. 9.
10. Excoffier L., Lischer H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 2010, vol. 10, pp. 564–567. DOI: 10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
11. Grasela J. J., McIntosh A. H. Application of Inter-Simple Sequence Repeats to insect cell lines: identification at the clonal and tissue-specific level. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Animal*, 2003, vol. 39, pp. 353–363. DOI: 10.1290/1543-706X(2003)039<0353:AOISRT>2.0.CO;2
12. Shouhani H., Dousti A., Radjabi R., Zarei M. Application of ISSR to study the genetic diversity of honeybee (*Apis mellifera* L.) populations in some areas of Iran. *Journal of Bioscience and Biotechnology*, 2014, vol. 3, no. 2, pp. 127–131. DOI: 10.13140/2.1.1140.5448
13. Xie J.-N., Guo J.-J., Jin D.-C., Wang X.-J. Genetic Diversity of *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) in China Detected by Inter-Simple Sequence Repeats. *Journal of Insect Science*, 2014, vol. 14, no. 233. DOI: 10.1093/jisesa/ieu095
14. Kutsev M. G. *Fragmentnyy analiz DNK rasteniy: RAPD, DAF, ISSR* [Fragment analysis of plant DNA: RAPD, DAF, ISSR]. Barnaul, ARTIKA Publ., 2009. 164 p. (in Russian).
15. Biémont C., Vieira C. Genetics: junk DNA as an evolutionary force. *Nature*, 2006, vol. 443, no. 7111, pp. 521–524. DOI: 10.1038/443521a

Cite this article as:

Kritskaya T. A., Kashin A. S., Anikin V. V., Nikelshparg M. I. Genetic Polymorphism in Populations of *Hieracium × robustum* (Asteraceae) as Result of the Hallabrottet *Aulacidea hieracii* (Hymenoptera: Cynipidae) Influence. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 357–363 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-357-363>
