Генотипирование инбредных линий и гибридов подсолнечника селекции Армавирской опытной станции ВНИИМК с помощью микросателлитных локусов

С.З. Гучетль,

кандидат биологических наук

Н.И. Зайцев,

доктор сельскохозяйственных наук

С.С. Фролов,

кандидат сельскохозяйственных наук

И.Н. Фролова,

старший научный сотрудник

Е.С. Кузнецова,

лаборант-исследователь

Армавирская опытная станция –
филиал ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

Россия, 352925, Краснодарский край, г. Армавир,
пос. Центральная усадьба опытной станции
ВНИИМК

Тел./факс: 8 (86137) 3-13-76

E-mail: stanciya-vniimk@yandex.ru

Для цитирования: Гучетль С.З., Зайцев Н.И.,
Фролов С.С., Фролова И.Н., Кузнецова Е.С.
Генотипирование инбредных линий и гибридов
подсолнечника селекции Армавирской опытной
станции ВНИИМК с помощью микросателлитных
локусов // Масличные культуры. – 2019. – Вып. 3
(179). – С. 27–34.

Ключевые слова: подсолнечник, линии, гибриды, генотипирование, микросателлитные локусы.

Идентификация линий и гибридов – актуальная задача современной селекции. Цель данной работы – разработка оптимальной системы микросателлитных ДНК-маркеров для генотипирования инбредных линий и гибридов подсолнечника селекции АОС ВНИИМК. Материалом для исследования служили 13 линий (ВА 93, ВА 760, ВА 761, ВА 4, ВА 6, ВА 384, ВА 389, ВА 317, ВА 325, ВК 21, ВА 337, ВА 737, ВА 812) и 10 гибридов (Барс, Натали, Ирэн, Мэлин, Медас, Арис, Арнеб, Беркут, Арлин, Арими) коллекции подсолнечника АОС ВНИИМК. Восемнадцать пар праймеров, показавших наличие полиморфизма, были

использованы для генотипирования инбредных линий и гибридов подсолнечника. Наиболее полиморфными локусами были Har 514, ORS 610 и Har 1608 (n_a равное 3–4, PIC – от 0,51 до 0,65 и n_e – от 2,04 до 2,85). Локусы Har 1327 и ORS 1079 имели низкие показатели полиморфизма (n_a равное 2, PIC – от 0,14 до 0,25 и n_e – от 1,16 до 1,33). Остальные локусы имели средний уровень полиморфизма (n_a равное 2–3, PIC – от 0,36 до 0,50, n_e – от 1,56 до 2,00). Среднее число аллелей на локус составило 2,3. Рассчитанные нами величины характеризуют полиморфизм исследованных образцов коллекции как средний. Анализ электрофоретических спектров 18 полиморфных микросателлитных локусов линий показал индивидуальность аллельного состава каждой из них, кроме линий, являющихся аналогами по отношению друг к другу. Уникальность анализируемой группы линий составила 82 %. У большинства локусов наследование ампликонов происходило по кодоминантному типу, но некоторые проявили себя как доминантные: ORS 366, ORS 307, ORS 610, Har 1442, Har 432. Все изученные гибриды имели отличающиеся генотипы. Уникальность коллекции гибридов 100 %. Используемые микросателлитные локусы могут рассматриваться как оптимальные для генотипирования инбредных линий и гибридов подсолнечника селекции АОС ВНИИМК.

UDC 631.523:633.854.78

Genotyping of sunflower inbred lines and hybrids bred at the Armavirskaya experimental station using SSR-loci.

S.Z. Guchetl, PhD in biology

N.I. Zaitsev, doctor of agriculture

S.S. Frolov, PhD in agriculture

I.N. Frolova, senior researcher

E.S. Kuznetsova, laboratory assistant

Armavirskaya experimental station – a branch of V.S.
Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops
The Central settl. of AOS VNIIMK, Armavir, Krasnodar
region, 352925, Russia
Tel./fax: 8 (86137) 3-13-76
E-mail: stanciya-vniimk@yandex.ru

Key words: sunflower, line, hybrid, genotyping, microsatellite loci.

Identification of lines and hybrids is an actual task of the modern breeding. The purpose of the present work was to develop an optimal system of microsatellite DNA-markers for genotyping of sunflower inbred lines and hybrids bred at the Armavirskaya experi-

mental station – a branch of V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops (AOS VNIIMK). As an object of the research we used 13 lines (VA 93, VA 760, VA 761, VA 4, VA 6, VA 384, VA 389, VA 317, VA 325, VK 21, VA 337, VA 737, and VA 812) and 10 hybrids (Bars, Natali, Iren, Melin, Medas, Aris, Arneb, Berkut, Arlin, Arimi) from sunflower collection of AOS VNIIMK. We used 18 pair of primers which showed presence of polymorphism to genotype sunflower inbred lines and hybrids. The most polymorphic loci were Har 514, ORS 610 and Har 1608 (n_a equal 3–4, PIC – from 0.51 to 0.65, n_e – from 2.04 to 2.85). Loci Har 1327 and ORS 1079 showed low polymorphism (n_a equal 2, PIC – from 0.14 to 0.25, n_e – from 1.16 to 1.33). The rest loci had a middle level of polymorphism (n_a equal 2–3, PIC – from 0.36 to 0.50, n_e – from 1.56 to 2.00). The average number of alleles per a locus was 2.3. Accounted values characterize polymorphism of studied samples as average. Analysis of electrophoretic spectra of 18 polymorphic SSR-loci proved uniqueness of each line alleles, except lines which are analogs of each other. Uniqueness of the studied lines was 82%. The most loci inherited amplicons by codominant type but there were also some dominant ones: ORS 366, ORS 307, ORS 610, Har 1442, Har 432. All studied hybrids had discrepant genotypes. Uniqueness of the hybrid collection is 100%. Used SSR-loci can be considered as optimal ones for genotyping of sunflower inbreds and hybrids developed at AOS VNIIMK.

Введение. Использование молекулярных маркеров дает особые преимущества при оценке генетического разнообразия, для идентификации и определения генетической чистоты сортов, а также для изучения полиморфизма и генетического сходства у основных сельскохозяйственных культур, таких как кукуруза [1], соя [2; 3], рис [4], картофель [5], люцерна [6], сорго [7] и т.д. Уровень полиморфизма и генетических отношений изучали с помощью различных молекулярных маркеров, таких как RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA), RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) и SSR (Single Sequence Repeats). Из-за своей мультиаллельной и высокополиморфной природы микросателлитные маркеры, или SSR, в настоя-

щее время являются предпочтительным методом молекулярной селекции у растений. У подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) микросателлиты были особенно информативны при изучении филогенетических взаимоотношений, паспортизации сортов и генетических взаимоотношений между инбредными линиями [8; 9; 10]. Идентификация линий и гибридов – актуальная задача современной селекции. Для идентификации и паспортизации линий и гибридов подсолнечника селекции АОС ВНИИМК ранее были выполнены оптимизация условий ПЦР, подбор микросателлитных локусов для создания системы молекулярных маркеров. Некоторые из изученных линий обладали идентичным составом аллелей микросателлитных локусов. Это предполагало дальнейший скрининг SSR-локусов для более точной идентификации генотипов подсолнечника [11]. Цель данной работы – разработка оптимальной системы микросателлитных ДНК-маркеров для генотипирования инбредных линий и гибридов подсолнечника селекции АОС ВНИИМК.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили 13 линий (ВА 93, ВА 4, ВА 6, ВА 760 [12], ВА 761, ВА 317, ВА 325, ВК 21 ими [13], ВА 337 [14], ВА 384 [15], ВА 389 [16], ВА 737, ВА 812) и 10 гибридов (Барс, Беркут, Арими [17], Медас, Мэлин, Натали [18], Ирэн [19], Арнеб [20], Арис [21], Арлин) коллекции подсолнечника Армавирской опытной станции ВНИИМК. Геномную ДНК выделяли из семядольных листьев 5–7-дневных этиолированных проростков подсолнечника с помощью модифицированного метода Saghai-Maroo et al. [22] с использованием СТАВ-буфера. Для проведения ПЦР использовали 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 мМ трис-НСl, pH 8,8; 16,6 мМ сульфата аммония; 1,5–3 мМ $MgCl_2$; 0,01 % Tween 20; по 0,2 мМ дезоксирибонуклеозидфосфатов; по 10 пМ праймеров; 10 нг матричной ДНК и 1 ед. рекомбинантной

термостабильной ДНК. Амплификацию проводили в приборе Терцик (ДНК-технология, Россия). Условия амплификации: начальная денатурация при 96 °С в течение 2 мин; затем 30 циклов при соблюдении температурно-временного режима: отжиг при 55–60 °С в течение 40 с, элонгация – 1 мин при 70 °С, денатурация при 94 °С – 30 с, финальная элонгация – 2 мин. В этом исследовании мы использовали 18 праймеров SSR, разработанных N. Paniego et al. и S. Tang et al. [9; 23]. Электрофорез продуктов амплификации проводили в агарозном геле (2 % агароза, 1 x SB-буфер) с использованием камеры для горизонтального электрофореза (SE. 2, ДНК-технология, Россия) в течение 1–1,5 ч при силе тока 60 mA и напряжении 90–100 V. Последующее окрашивание осуществляли бромистым этидием. Визуализацию и документирование результатов электрофореза обеспечивали при помощи трансиллюминатора ECX-F20.M (WILBER LOURMAT, Франция) и фотоаппарата Canon EOS 550D (Япония). Идентификацию и определение размеров аллелей микросателлитных локусов проводили визуально, путём сравнения со стандартным образцом – маркером молекулярной массы 100 bp (Сибэнзим, Москва). Для определения различий между линиями подсолнечника данные ПЦР-анализа были обработаны кластерным анализом, методом Ward с помощью пакета программ (Statistica 6.0). Генетические дистанции рассчитаны с помощью Евклидова расстояния.

Индекс полиморфного содержания (PIC) [24] и эффективное число аллелей (n_e) [25] вычисляли по формулам:

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2,$$

где P – частота j паттерна для локуса i и суммирование распространяется на n паттернов.

$$n_e = 1 / \sum_{j=1}^n P_{ij}^2,$$

где n_e – эффективное число аллелей.

Результаты и обсуждение. Восемнадцать пар праймеров, показавших наличие полиморфизма, были использованы для генотипирования инбредных линий и гибридов подсолнечника селекции Армавирской опытной станции ВНИИМК. Для них была выполнена оптимизация условий ПЦР, при которых продукты амплификации четко визуализировались. Характеристика амплифицированных локусов представлена в таблице 1.

Таблица 1

Характеристика ДНК-локусов, использованных для генотипирования линий подсолнечника АОС ВНИИМК

Армавирская ОС ВНИИМК, 2019 г.

Локус	Молекулярный вес продукта (п.н.)	PIC	n_a	n_e
Har 1796	180; 280	0,36	2	1,56
ORS 366	220; 250	0,47	2	1,88
ORS 811	150; 200	0,36	2	1,56
ORS 1287	200; 210	0,47	2	1,88
ORS 307	160; 190	0,36	2	1,56
ORS 1079	450; 480	0,25	2	1,33
ORS 561	410; 500	0,50	2	2,00
ORS 533	170; 175	0,50	2	2,00
Har 1327	195; 205	0,14	2	1,16
Har 1442	0; 165	0,47	2	1,88
ORS5	320; 350	0,42	2	1,72
ORS 559	100; 150	0,50	2	2,00
ORS 815	180; 200	0,47	2	1,88
ORS 1144	136; 177	0,42	2	1,72
ORS 610	170; 180; 190	0,51	3	2,04
Har 432	170; 175; 180	0,37	3	1,64
Har 514	180; 185; 190	0,64	3	2,85
Har 1608	240; 260; 270; 280	0,65	4	2,85

Примечание: PIC – индекс полиморфного содержания; n_a – наблюдаемое число аллелей; n_e – эффективное число аллелей.

У 14 SSR локусов обнаружено по два аллеля, по три аллеля – у локусов Har 517, ORS 610 и Har 432. У локуса Har 1608 было выявлено четыре аллеля.

Для определения дискриминационного потенциала системы маркеров в пределах использованной группы линий вычисляли такие показатели, как наблюдаемое число аллелей на полиморфный локус (n_a), ин-

декс полиморфного содержания (PIC) и эффективное число аллелей (n_e) (табл. 1).

Наиболее полиморфными локусами были Har 514, ORS 610 и Har 1608 (n_a равное 3–4, PIC – от 0,51 до 0,65 и n_e – от 2,04 до 2,85). Локусы Har 1327 и ORS 1079 имели низкие показатели полиморфизма (n_a равное 2, PIC – от 0,14 до 0,25 и n_e – от 1,16 до 1,33). Остальные локусы имели средний уровень полиморфизма (n_a равное 2–3, PIC – от 0,36 до 0,50, n_e – от 1,56 до 2,00) (табл. 1).

Среднее число аллелей на локус составило 2,3, что совпадает с полученным ранее для 12 линий подсолнечника Армавирской опытной станции ВНИИМК [11]. Рассчитанные нами величины характеризуют полиморфизм исследованных образцов коллекции как средний. Анализ электрофоретических спектров 18 полиморфных микросателлитных локусов линий показал индивидуальность аллельного состава каждой из них (табл. 2).

Линии ВА 760 с ВА 761 и ВА 325 с ВК 21, которые являются аналогами по отношению друг к другу, имели идентичные генотипы по 18 локусам. Их идентичность была показана в работе [11] при использовании 11 микросателлитных и 4 изоферментных локусов. Увеличение количества маркерных локусов не выявило различий между данными линиями. Но были идентифицированы линии ВА 93 и ВА 760, не показавшие отличий ранее [11] (табл. 2). Уникальность проанализированной группы линий составила 82 %.

Для определения степени сходства между линиями на основе матрицы состояний бинарных признаков был проведен кластерный анализ методом Ward и построена дендрограмма генетических взаимоотношений между изученными линиями (рис. 1).

Рисунок 1 – Дендрограмма генетического сходства 13 линий селекции Армавирской ОС ВНИИМК на основе 18 полиморфных SSR-локусов ДНК

Анализ дендрограммы показал, что изученные линии разделились на два кластера, с генетической дистанцией между ними 9,3. В один кластер попали материнские линии ВА 93, ВА 760, ВА 761, ВА 4, ВА 6, а также две отцовские линии ВА 384 и ВА 389. Второй кластер объединил отцовские линии ВА 317, ВА 337, ВА 737, ВА 812, ВА 325, ВК 21. Как было отмечено в работе Гучетль С.З. с соавторами [11], объединение линий в кластеры в большей степени зависело от принадлежности к отцовской или материнской линии.

Наследование микросателлитных локусов обычно носит кодоминантный характер. Это в значительной мере обуславливает их использование для паспортизации гибридов, поскольку позволяет определить наличие обоих родительских аллелей в их генотипах. В нашем исследовании у гибридов некоторые из изучаемых локусов проявили себя как доминантные: ORS 366, ORS 307, ORS 610, Har 1442, Har 432. У этих гибридов маркерный локус был представлен лишь одним из родительских аллелей. Четыре локуса не выявили полиморфизма: ORS 307, ORS 610, Har 1442 и Har 1327. Результаты генотипирования гибридов представлены в таблице 3.

Таблицы 2 и 3

У большинства локусов наследование ампликонов происходило по кодоминантному типу. У локусов, находящихся в гетерозиготном состоянии, мы наблюдали оба родительских ампликона (гибрид Арис), в гомозиготном состоянии – один ампликон (гибрид Натали) (рис. 2).

Рисунок 2 – Электрофоретические спектры продуктов амплификации ДНК у гибридов подсолнечника Натали, Арис и их родительских линий по локусу ORS 811.

ОК – отрицательный контроль.

М – маркер молекулярного веса 100 пн

Несмотря на наличие мономорфных локусов, все изученные гибриды имели отличающиеся генотипы. Уникальность коллекции гибридов 100 %.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что система маркеров из 18 пар микросателлитных локусов выявляет полиморфизм фракций амплифицированной ДНК. Дискриминационный потенциал системы маркеров в пределах использованной группы линий характеризуется как средний. Уникальность проанализированной коллекции линий Армавирской опытной станции ВНИИМК составила 82 %, гибридов – 100 %. Используемые микросателлитные локусы являются оптимальными для генотипирования инбредных линий и гибридов подсолнечника селекции АОС ВНИИМК.

Список литературы

1. Carvalho V.P., Ruas C.F., Ferreira J.M., Moreira R.M.P. and Ruas P.M. Genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) landraces assessed by RAPD markers // *Genetics and Molecular Biology*. – 2004. – V. 27. – Is 2. – P. 228–236.

2. Рамазанова С.А., Гучетль С.З., Челюстникова Т.А., Антонова Т.С. Полиморфизм микросателлитных локусов ДНК у сортов сои селекции ВНИИМК // *Современные проблемы научного обеспечения производства подсолнечника*. Сб. докл. междунар. науч.-практ. конф., посвященной 120-летию со дня рождения академика В.С. Пустовойта. – Краснодар, 2006. – С. 234–239.

3. Narvel J.M., Fehr W.R., Chu W., Grant D. and Shoemaker R.C. Simple sequence repeat diversity among soybean plant introductions and elite genotypes // *Crop Sci.* – 2000. – V. 40. – P. 1452–1458.

4. Сунрун И.И., Ковалев В.С., Коротенко Т.Л., Степанов И.В., Лободина Е.В. Анализ генетических взаимосвязей сортов риса из разных эколого-географических групп с использованием SSR-маркеров // *Биотехнология и селекция растений*. – 2019. – Т. 2. – № 1. – С. 7–15.

5. Solano Solis J., Morales Ulloa D., Anabalón Rodríguez L. Molecular description and similarity relationships among native germplasm potatoes (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) using morphological data and AFLP markers // *Electron. J. Biotechnol.* [online]. – 2007. – V. 10 (3). – P. 436–443.

6. Смоленская С.Э., Квасова Э.В., Редина О.Е. Тестирование полиморфизма в сортах и инбредных линиях многолетней люцерны // *Вестник ВОГиС*. – 2008. – Т. 12. – № 4. – С. 629.

7. Smith J.S.C., Kresovich S., Hopkins M.S., Mitchell S.E., Dean R.E., Woodman W.L., Lee M. and Porter K. Genetic diversity among elite sorghum inbred lines assessed with simple sequence repeats // *Crop Sci.* – 2000. – V. 40. – P. 226–232.

8. Solodenko A., Sivolap Y. Genotyping of *Helianthus* based on microsatellite sequences. // *Helia*. – 2005. – V. 28 (42). – P. 19–26.

9. Paniego N., Eschaide M., Munoz M., Fernandez L., Torales S., Faccioi P., Fuxan I., Carrera M., Zandomeny R., Suarez E. and Hopp H. Microsatellite isolation and characterization in sunflower (*Helianthus annuus* L.) // *Genome*. – 2002. – V. 45. – P. 34–43.

10. Гучетль С.З., Челюстникова Т.А., Антонова Т.С., Рамазанова С.А. Микросателлитные локусы как маркеры для идентификации и сертификации линий и гибридов подсолнечника селекции ВНИИМК // *Масличные культуры*. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2007. – Вып. 2 (137). – С. 27–32.

11. Гучетль С.З., Фролов С.С., Зайцев Р.Н., Кузнецова Е.С. Паспортизация линий и гибридов подсолнечника селекции Армавирской опытной станции ВНИИМК: подбор оптимальных ДНК локусов и условий ПЦР // *Масличные культуры*. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2017. – Вып. 3 (171). – С. 23–28.

12. Деревенец В.Н., Дудка Н.З., Зайцев Н.И., Мамонов И.Ф., Фролов С.С., Фролова И.Н. Подсолнечник ВА 760 : Патент РФ на селекционное достижение № 6982 от 30.07.2013 г., по заявке № 54188/8953101 с датой приоритета 19.04.2010 г.;

заявитель и патентообладатель – ГНУ Армавирская опытная станция ВНИИМК.

13. Демури́н Я.Н., Пихтярёва А.А., Борисенко О.М., Зайцев Н.И., Фролов С.С. Подсолнечник ВК 21 ИМИ : Патент РФ на селекционное достижение № 7503 от 03.09.2014 г., по заявке № 8853881 с датой приоритета 28.11.2011 г.; заявитель и патентообладатель – ГНУ ВНИИМК.

14. Деревенец В.Н., Зайцев Н.И., Мамонов И.Ф., Мамонова Р.Н., Фролов С.С., Фролова И.Н. Подсолнечник ВА 337 : Патент РФ на селекционное достижение № 6080 от 01.09.2011 г., по заявке № 54394/9154699 с датой приоритета 02.12.2008 г.; заявитель и патентообладатель – ГНУ Армавирская опытная станция ВНИИМК.

15. Деревенец В.Н., Дудка Н.З., Зайцев Н.И., Илюхин Д.В., Фролов С.С., Фролова И.Н. Подсолнечник ВА 384 : Патент РФ на селекционное достижение № 7880 от 03.06.2015 г., по заявке № 60715/8757285 с датой приоритета 06.12.2012 г.; заявитель и патентообладатель – ФГБНУ «Армавирская опытная станция ВНИИМК им. В.С. Пустовойта».

16. Демури́н Я.Н., Деревенец В.Н., Зайцев Н.И., Фролов С.С., Фролова И.Н. Подсолнечник ВА 389 : Патент РФ на селекционное достижение № 10044 от 03.06.2015 г., по заявке № 66498/8559160 с датой приоритета 12.12.2014 г.; заявитель и патентообладатель – ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК.

17. Демури́н Я.Н., Пихтярёва А.А., Борисенко О.М., Трёмбак Е.Н., Пикалова Н.А., Лукомец В.М., Зайцев Н.И., Фролов С.С. Подсолнечник АРИМИ: Патент РФ на селекционное достижение № 7391 от 29.05.2014 г., по заявке № 8853879 с датой приоритета 28.11.2011 г.; заявитель и патентообладатель – ГНУ ВНИИМК.

18. Деревенец В.Н., Дьяков А.Б., Зайцев Н.И., Мамонов И.Ф., Фролов С.С., Фролова И.Н. Подсолнечник НАТАЛИ : Патент РФ на селекционное достижение № 66849 от 11.03.2013 г., по заявке № 55707/8954285 с датой приоритета 02.12.2010 г.; заявитель и патентообладатель – ГНУ Армавирская опытная станция ВНИИМК.

19. Деревенец В.Н., Дудка Н.З., Зайцев Н.И., Илюхин Д.В., Мамонов И.Ф., Фролов С.С., Фролова И.Н. Подсолнечник ИРЭН : Патент РФ на селекционное достижение № 8319 от 16.03.2016 г., по заявке № 60717/8757286 с датой приоритета 06.12.2012 г.; заявитель и патентообладатель – ФГБНУ «Армавирская опытная станция ВНИИМК им. В.С. Пустовойта».

20. Демури́н Я.Н., Деревенец В.Н., Зайцев Н.И., Фролов С.С., Фролова И.Н. Подсолнечник АРНЕБ : Патент РФ на селекционное достижение № 9576 от 19.03.2018 г., по заявке № 66500/8559161 с датой приоритета 12.12.2014 г.; заявитель и патентообладатель – ФГБНУ «Армавирская опытная станция ВНИИМК им. В.С. Пустовойта».

21. Демури́н Я.Н., Деревенец В.Н., Зайцев Н.И., Свиридов Н.Н., Фролов С.С., Фролова И.Н. Подсолнечник АРИС : Патент РФ на селекционное

достижение № 9704 от 13.06.2018 г., по заявке № 68250/8457277 с датой приоритета 23.11.2015 г.; заявитель и патентообладатель – ФГБНУ «Армавирская опытная станция ВНИИМК им. В.С. Пустовойта».

22. Saghai-Marooф M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // PNAS, USA. – 1984. – V. 81. – P. 8014–8018.

23. Tang S., Yu J.K., Slabaugh M.D., Shintani D.K., Knapp S.J. Simple sequence repeat map of the sunflower genome // Theor. and Appl. Genet. – 2002. – No. 105. – P. 1124–1136.

24. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях // Научно-методическое руководство / Под ред. Сиволопа Ю.М. – Киев: Аграрна наука, 1998. – 156 с.

25. Айала Ф., Кайзер Д. Современная генетика. Т. 3. – М.: Мир, 1988. – 332 с.

References

1. Carvalho V.P., Ruas C.F., Ferreira J.M., Moreira R.M.P. and Ruas P.M. Genetic diversity among maize (*Zea mays* L.) landraces assessed by RAPD markers // Genetics and Molecular Biology. – 2004. – V. 27. – Is. 2. – P. 228–236.

2. Ramazanovа S.A., Guchetl' S.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova T.S. Polimorfizm mikrosatellitnykh lokusov DNK u sortov soi selektsii VNIIMK // Sovremennye problemy nauchnogo obespecheniya proizvodstva podsolnechnika. Sb. dokl. mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashchennoy 120-letiyu so dnya rozhdeniya akademika V.S. Pustovoyta. – Krasnodar, 2006. – S. 234–239.

3. Narvel J.M., Fehr W.R., Chu W., Grant D. and Shoemaker R.C. Simple sequence repeat diversity among soybean plant introductions and elite genotypes // Crop Sci. – 2000. – V. 40. – P. 1452–1458.

4. Suprun I.I., Kovalev V.S., Korotenko T.L., Stepanov I.V., Lobodina E.V. Analiz geneticheskikh vzaimosvyazey sortov risa iz raznykh ekologo-geograficheskikh grupp s ispol'zovaniem SSR-markeroв // Biotekhnologiya i selektsiya rasteniy. – 2019. – T. 2. – № 1. – S. 7–15.

5. Solano Solis J., Morales Ulloa D, Anabalón Rodríguez L. Molecular description and similarity relationships among native germplasm potatoes (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum* L.) using morphological data and AFLP markers // Electron. J. Biotechnol. [online]. – 2007. – V. 10 (3). – P. 436–443.

6. Smolenskaya S.E., Kvasova E.V., Redina O.E. Testirovaniye polimorfizma v sortakh i inbrednykh liniyakh mnogoletney lyutserny // Vestnik VOGiS. – 2008. – T. 12. – № 4. – S. 629.

7. Smith J.S.C., Kresovich S., Hopkins M.S., Mitchell S.E., Dean R.E., Woodman W.L., Lee M. and Porter K. Genetic diversity among elite sorghum

inbred lines assessed with simple sequence repeats // Crop Sci. – 2000. – V. 40. – P. 226–232.

8. Solodenko A., Sivolap Y. Genotyping of Helianthus based on microsatellite sequences. // Helia. – 2005. – V. 28 (42). – P. 19–26.

9. Paniego N., Eschaide M., Munoz M., Fernandez L., Torales S., Faccioi P., Fuxan I., Carrera M., Zandomeny R., Suarez E. and Hopp H. Microsatellite isolation and characterization in sunflower (Helianthus annuus L.) // Genome. – 2002. – V. 45. – P. 34–43.

10. Guchetl' S.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova T.S., Ramazanova S.A. Mikrosatellitnye lokusy kak markery dlya identifikatsii i sertifikatsii liniy i gibridov podsolnechnika selektsii VNIIMK // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2007. – Vyp. 2 (137). – S. 27–32.

11. Guchetl' S.Z., Frolov S.S., Zaytsev R.N., Kuznetsova E.S. Pasportizatsiya liniy i gibridov podsolnechnika selektsii Armavirskoy opytной stantsii VNIIMK: podbor optimal'nykh DNK lokusov i usloviy PTsR // Maslichnye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2017. – Vyp. 3 (171). – S. 23–28.

12. Derevenets V.N., Dudka N.Z., Zaytsev N.I., Mamonov I.F., Frolov S.S., Frolova I.N. Podsolnechnik VA 760 : Patent RF na selektsionnoe dostizhenie № 6982 ot 30.07.2013 g., po zayavke № 54188/8953101 s datoy prioriteta 19.04.2010 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – GNU Armavirskaya opytная stantsiya VNIIMK.

13. Demurin Ya.N., Pikhtyareva A.A., Borisenko O.M., Zaytsev N.I., Frolov S.S. Podsolnechnik VK 21 IMI : Patent RF na selektsionnoe dostizhenie № 7503 ot 03.09.2014 g., po zayavke № 8853881 s datoy prioriteta 28.11.2011 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – GNU VNIIMK.

14. Derevenets V.N., Zaytsev N.I., Mamonov I.F., Mamonova R.N., Frolov S.S., Frolova I.N. Podsolnechnik VA 337 : Patent RF na selektsionnoe dostizhenie № 6080 ot 01.09.2011 g., po zayavke № 54394/9154699 s datoy prioriteta 02.12.2008 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – GNU Armavirskaya opytная stantsiya VNIIMK.

15. Derevenets V.N., Dudka N.Z., Zaytsev N.I., Ilyukhin D.V., Frolov S.S., Frolova I.N. Podsolnechnik VA 384 : Patent RF na selektsionnoe dostizhenie № 7880 ot 03.06.2015 g., po zayavke № 60715/8757285 s datoy prioriteta 06.12.2012 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – FGBNU «Armavirskaya opytная stantsiya VNIIMK im. V.S. Pustovoyta».

16. Demurin Ya.N., Derevenets V.N., Zaytsev N.I., Frolov S.S., Frolova I.N. Podsolnechnik VA 389 : Patent RF na selektsionnoe dostizhenie № 10044 ot 03.06.2015 g., po zayavke № 66498/8559160 s datoy prioriteta 12.12.2014 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – FGBNU FNTs VNIIMK.

17. Demurin Ya.N., Pikhtyareva A.A., Borisenko O.M., Trembak E.N., Pikalova N.A., Lukomets V.M., Zaytsev N.I., Frolov S.S. Podsolnechnik ARIMI: Patent RF na selektsionnoe dostizhenie №

7391 ot 29.05.2014 g., po zayavke № 8853879 s datoy prioriteta 28.11.2011 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – GNU VNIIMK.

18. Derevenets V.N., D'yakov A.B., Zaytsev N.I., Mamonov I.F., Frolov S.S., Frolova I.N. Podsolnechnik NATALI : Patent RF na selektsionnoe dostizhenie № 66849 ot 11.03.2013 g., po zayavke № 55707/8954285 s datoy prioriteta 02.12.2010 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – GNU Armavirskaya opytная stantsiya VNIIMK.

19. Derevenets V.N., Dudka N.Z., Zaytsev N.I., Ilyukhin D.V., Mamonov I.F., Frolov S.S., Frolova I.N. Podsolnechnik IREN : Patent RF na selektsionnoe dostizhenie № 8319 ot 16.03.2016 g., po zayavke № 60717/8757286 s datoy prioriteta 06.12.2012 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – FGBNU «Armavirskaya opytная stantsiya VNIIMK im. V.S. Pustovoyta».

20. Demurin Ya.N., Derevenets V.N., Zaytsev N.I., Frolov S.S., Frolova I.N. Podsolnechnik ARNEB : Patent RF na selektsionnoe dostizhenie № 9576 ot 19.03.2018 g., po zayavke № 66500/8559161 s datoy prioriteta 12.12.2014 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – FGBNU «Armavirskaya opytная stantsiya VNIIMK im. V.S. Pustovoyta».

21. Demurin Ya.N., Derevenets V.N., Zaytsev N.I., Sviridov N.N., Frolov S.S., Frolova I.N. Podsolnechnik ARIS : Patent RF na selektsionnoe dostizhenie № 9704 ot 13.06.2018 g., po zayavke № 68250/8457277 s datoy prioriteta 23.11.2015 g.; zayavitel' i patentoobladatel' – FGBNU «Armavirskaya opytная stantsiya VNIIMK im. V.S. Pustovoyta».

22. Saghai-Marooif M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // PNAS, USA. – 1984. – V. 81. – P. 8014–8018.

23. Tang S., Yu J.K., Slabaugh M.D., Shintani D.K., Knapp S.J. Simple sequence repeat map of the sunflower genome // Theor. and Appl. Genet. – 2002. – No. 105. – P. 1124–1136.

24. Ispol'zovanie PTsR-analiza v genetiko-selektsionnykh issledovaniyakh // Nauchno-metodicheskoe rukovodstvo / Pod red. Sivolapa Yu.M. – Kiev: Agrarna nauka, 1998. – 156 s.

25. Ayala F., Kayger D. Sovremennaya genetika. T. 3. – M.: Mir, 1988. – 332 s.

Получено: 14.05.2019 Принято: 16.09.2019

Received: 14.05.2019 Accepted: 16.09.2019

Таблица 2

Аллельные состояния 18 микросателлитных локусов у 13 линий подсолнечника селекции АОС ВНИИМК

Армавирская ОС ВНИИМК, 2019 г.

Локус	Линия												
	BA 93	BA 4	BA 6	BA 760	BA 761	BA 317	BA 325	BK 21	BA 337	BA 384	BA 389	BA 737	BA 812
Har 1796	180*	180	280	280	280	280	280	280	280	280	280	180	280
ORS 366	220	250	250	250	250	220	220	220	220	250	220	220	220
ORS 811	200	150	150	150	150	150	150	150	150	200	150	200	150
ORS 1287	210	210	210	210	210	200	210	210	200	200	200	200	210
ORS 307	160	190	160	160	160	160	160	160	160	190	190	160	160
ORS 610	170	180	180	180	180	190	180	180	190	180	190	180	190
ORS 1079	480	480	480	450	450	480	480	480	480	480	480	480	480
ORS 561	410	410	500	500	500	410	410	410	410	410	500	500	500
ORS 533	170	175	175	170	170	175	170	170	175	175	175	175	170
Har 432	175	175	180	175	175	175	175	175	170	175	180	175	175
Har 514	190	190	185	190	190	180	180	180	180	180	190	180	185
Har 1327	195	195	205	195	195	195	195	195	195	195	195	195	195
Har 1442	0	0	0	0	0	165	165	165	165	165	165	165	165
Har 1608	260	270	260	260	260	270	280	280	270	270	270	240	260
ORS 5	320	350	320	320	320	350	320	320	350	320	320	350	320
ORS 559	150	150	150	150	150	100	100	100	100	150	150	100	100
ORS 815	180	180	180	180	180	200	200	200	200	180	180	200	180
ORS 1144	136	136	136	136	136	136	177	177	136	177	177	136	136

Примечание: *количество пар нуклеотидных оснований (п.н.) фрагмента ДНК

Таблица 3

Аллельные состояния 18 микросателлитных локусов у 10 гибридов подсолнечника селекции Армавирской ОС ВНИИМК

Армавирская ОС ВНИИМК, 2019 г.

Локус	Гибрид									
	Барс	Натали	Ирэн	Мэлин	Медас	Арис	Арнеб	Беркут	Арлин	Арими
Har 1796	180/280**	280*	280	180/280	180/280	180/280	280	180/280	280	280
ORS 811	150/200	150	150/200	150/200	150	150/200	150	150/200	150	150
ORS 1287	200/210	200/210	200/210	200/210	200/210	200/210	200/210	200/210	210	210
ORS 1079	480	450/480	450/480	480	480	450/480	450/480	480	450/480	480
ORS 561	410	500	410/500	500/410	410	500	500	410	500	410
ORS 533	170/175	175	175	175	175	175	175	170	170	170
Har 432	175	175	175	180	175	175	180	175	175	175
Har 514	190/180	180/190	190/180	180/185	180/190	180/190	190	180/190	190	185
Har 1608	260/270	260/270	260/270	260/270	270	240/260	260/270	260/280	260	280
ORS 5	320/350	320/350	320	320/350	350	320/350	320	320	320	320
ORS 559	150/100	150/100	150	150/100	150/100	150/100	150	150/100	150/100	100
ORS 815	180/200	180/200	180	180/200	180/200	180/200	180	180/200	180	180
ORS 144	136	136	136/177	136	136	136	136/177	136 177	136	136
ORS 366	220	220	250	220	250	220	220	220	220	220
Har 1327	195	195	195	195	195	195	195	195	195	195
Har 1442	165	165	165	165	165	165	165	165	165	165
ORS 307	160	160	160	160	160	160	160	160	160	160
ORS 610	180	180	180	180	180	180	180	180	180	180

Примечание: *количество пар нуклеотидных оснований (п.н.) фрагмента ДНК.

**гетерозиготные спектры, в которых присутствуют фракции двух разных аллелей