

<https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.2.173-186>
УДК 631.523:633.854.78



Генетическое разнообразие линий подсолнечника российской селекции, выявленное с помощью анализа микросателлитных локусов

© 2023. С. З. Гучетль✉, А. В. Головатская, С. А. Рамазанова, А. А. Волошко
ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта», г. Краснодар, Российская Федерация

Для селекции высокопродуктивных сортов и гибридов подсолнечника необходимо использование исходного материала, обладающего значительным генетическим разнообразием. Его можно выявить с помощью молекулярно-генетических маркеров. Цель исследований – генотипирование линий подсолнечника селекции Федерального научного центра «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта» (ВНИИМК), созданных в разных экологических зонах возделывания, и оценка их генетического разнообразия с помощью микросателлитных локусов. Для исследований, проведенных в 2020-2022 гг., использовали 23 линии из коллекции Центральной экспериментальной базы (ЦЭБ), 17 линий – Донской опытной станции имени Л. Н. Жданова (ДОС) и 10 линий – Армавирской опытной станции (АОС) ВНИИМК. ДНК была выделена из проростков СТАВ-способом. Образцы генотипированы с использованием 12 SSR-маркеров. Продукты ПЦР разделяли в 8%-ном денатурирующем полиакриламидном геле или методом капиллярного электрофореза в генетическом анализаторе. Основные показатели генетического разнообразия для всех коллекций незначительно отличались друг от друга, были умеренными и увеличивались в ряду коллекций ВНИИМК: АОС – ДОС – ЦЭБ – объединенная коллекция. Суммарно выявлено 37 аллелей, в среднем 3,083 аллеля на локус. Эффективное число аллелей составило от 1,094 до 3,290, в среднем 2,154. Значения индекса полиморфного информационного содержания варьировали от 0,084 до 0,651, в среднем 0,434. Значения величин наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности колебались от нуля до 0,071, в среднем 0,030 и от 0,086 до 0,696, в среднем 0,500, соответственно. Число общих аллелей между разными коллекциями составило 23. Анализ молекулярной вариации выявил, что большая часть общей дисперсии (91 %) обусловлена различиями между линиями внутри каждой коллекции, 3 % – различиями между коллекциями. По результатам кластерного анализа материнские линии коллекций ЦЭБ, ДОС и АОС ВНИИМК, в основном, группировались в отдельный от отцовских кластер или субкластер. Полученные результаты свидетельствуют об умеренном генетическом разнообразии изученных линий подсолнечника селекции ВНИИМК и о существовании небольших различий между коллекциями.

Ключевые слова: *Helianthus annuus* L., линия, происхождение, ДНК, SSR, полимеразная цепная реакция, генетическое разнообразие

Благодарности: работа выполнена при поддержке Министерства сельского хозяйства РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта» (тема FGRU-2019-0002, № ЕГИСУ НИОКТР АААА-А20-120121890075-8).

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Гучетль С. З., Головатская А. В., Рамазанова С. А., Волошко А. А. Генетическое разнообразие линий подсолнечника российской селекции, выявленное с помощью анализа микросателлитных локусов. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2023;24(2):173-186. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.2.173-186>

Поступила: 19.01.2023 Принята к публикации: 17.03.2023 Опубликована онлайн: 25.04.2023

Genetic diversity of the Russian sunflower breeding lines revealed by microsatellite loci analysis

© 2023. Saida Z. Guchetl✉, Anna V. Golovatskaya, Svetlana A. Ramazanova, Anastasiya A. Voloshko

V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, Krasnodar, Russian Federation

The breeding of high-yielding sunflower varieties and hybrids requires the use of parent material with considerable genetic diversity. It can be identified using molecular genetic markers. The purpose of this study was the genotyping of sunflower lines bred by V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops (VNIIMK), developed in different ecological areas of cultivation, and to evaluate their genetic diversity using microsatellite loci. For the studies conducted in 2020-2022, there were used 23 lines from the Central experimental base (CEB), 17 lines from L.A. Zhdanov Don experimental station (DES), and 10 lines from the Armavir experimental station (AES). DNA was isolated from seedlings by the CTAB method. Samples were genotyped using 12 SSR markers. PCR products were separated in 8 % denaturing polyacrylamide gel or by capillary electrophoresis in a genetic analyzer. The main indicators of genetic diversity for all collections did not differ significantly from each other,

and were moderate and increased in the collections of VNIIMK: AES – DES – CEB -the joint collection. In total there have been identified 37 alleles, an average 3.083 alleles per locus. The effective number of alleles ranged from 1.094 to 3.290 with an average value of 2.154. The values of the polymorphic information content (PIC) index ranged from 0.084 to 0.651, with an average of 0.434. The values of observed and expected heterozygosity ranged from zero to 0.071, 0.030, on average, and from 0.086 to 0.696, 0.500, on average, respectively. The number of shared alleles between different collections was 23. Molecular variation analysis revealed that most of the total variance (91 %) was due to differences between lines within each collection and 3 % - to differences between collections. According to the results of the cluster analysis, the maternal lines from the collections of the CEB, DES, and AES of VNIIMK were mostly grouped into a cluster or subcluster separate from the paternal ones. The obtained results indicate a moderate genetic diversity of the studied sunflower lines of the breeding of VNIIMK and the existence of small differences between the collections.

Key words: *Helianthus annuus* L., line, origin, DNA, SSR, polymerase chain reaction, genetic diversity

Acknowledgements: the research was carried out under the support of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation within the state assignment of V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops (theme No. FGRU-2019-0002, № EGISU NIOKTR AAAA-A20-120121890075-8).

Conflict of interest: the authors stated no conflict of interest.

For citations: Guchetl S. Z., Golovatskaya A. V., Ramazanova S. A., Voloshko A. A. Genetic diversity of the Russian sunflower breeding lines revealed by microsatellite loci analysis. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2023;24(2):173-186. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.2.173-186>

Received: 19.01.2023

Accepted for publication: 17.03.2023

Published online: 25.04.2023

Подсолнечник (*Helianthus annuus* L.) – одна из важнейших масличных культур. Для получения высоких урожаев актуально производство отечественных высокопродуктивных сортов и гибридов, адаптированных к условиям регионов возделывания. Для их создания необходимо использование исходного материала, обладающего значительным генетическим разнообразием. Культивируемый подсолнечник является генетически очень изменчивым, предположительно из-за гибридизации с дикими родичами. Чтобы охарактеризовать генетическое разнообразие подсолнечника и количественно оценить вклад диких родичей в формирование генома культурного подсолнечника, С. Хюбнер с соавторами (S. Hübner et al.) [1] секвенировали культивируемые линии, местные американские коренные сорта и дикорастущие образцы (формы), относящиеся к 11 видам. Авторы обнаружили, что пангеном культивируемого подсолнечника включает 61 205 генов, из которых 27 % различаются между генотипами. Приблизительно 10 % пангенома культивируемого подсолнечника получено в результате интрогрессии генетического материала от дикорастущих видов подсолнечника [1]. Однако использование ограниченного числа генотипов в качестве родительских форм в программах селекции приводит к уменьшению генетической изменчивости возделываемых гибридов и сортов. Ц. В. Филиппи с соавт. (C. V. Filippi et al.) [2, 3] оценили степень генетического разнообразия предселекционных коллекций подсолнечника INTA (Аргентина), INRA (Франция) и USDA-UBC (Соединенные Штаты Америки – Канада).

Стратегия смешанного генотипирования была реализована объединением собственных секвенированных данных с общедоступными данными полногеномного секвенирования для создания интегративной матрицы однонуклеотидного полиморфизма из 11 834 SNP. В целом, полученные авторами оценки генетического разнообразия были умеренными.

Для изучения генетического разнообразия подсолнечника доступны различные виды молекулярных маркеров, наиболее популярными из которых являются микросателлиты (single sequence repeats, SSR) и однонуклеотидные полиморфизмы (SNP). Порядка 2000 SSR-маркеров были разработаны ранее на основе геномных (gSSR) и EST (EST-SSR) библиотек [4, 5, 6]. SNP-технологии бурно развиваются в последнее десятилетие [7, 8, 9]. Аллельной изменчивостью в локусах SSR и SNP управляют различные мутационные процессы, частота мутаций SNP на несколько порядков ниже, чем у SSR. Как следствие, SNP обычно диаллельны, тогда как SSR характеризуются богатым аллельным разнообразием и высокой степенью его гетерозиготности [10]. Предполагается, что для генетических исследований следует использовать в 7-11 раз больше SNP-маркеров, чем SSR [11]. Так, популяционная структура коллекций зародышевой плазмы обычно оценивается с использованием полиаллельных SSR-локусов, из-за их более высокой информативности по сравнению с диаллельными SNP-маркерами [12, 13]. С помощью 42 микросателлитных и 182 SNP-маркеров Ц. В. Филиппи с соавт. (C. V. Filippi et al.) [3] изучали уровни разнообразия и попу-

ляционной структуры зародышевой плазмы подсолнечника в предселекционных коллекциях INTA. Оба типа маркеров продемонстрировали сходные показатели генетической изменчивости. Была обнаружена значимая корреляция генетических дистанций между образцами зародышевой плазмы, выявленных при использовании SSR- и SNP-маркеров.

Генотипирование подсолнечника с использованием полиморфизма микросателлитных локусов проводилось во многих селекционных центрах. В последнее десятилетие проведена паспортизация родительских линий и гибридов подсолнечника селекции Молдавии [14], Франции [15], Аргентины [2, 3], Пакистана, Беларуси, Индии, США и т. д. [16, 17]. Для генотипирования использовалось от 10 до 110 SSR-маркеров. В большинстве случаев удалось достичь отличимости генотипов, установить генетические взаимоотношения между линиями.

Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта» (ВНИИМК) – ведущая организация, занимающаяся селекцией и семеноводством масличных культур в Российской Федерации, с более чем вековой историей. Сорта подсолнечника, созданные В. С. Пустовойтом во ВНИИМК, стали основой для создания современных сортов во всем мире. Помимо селекционной программы по созданию межлинейных гибридов подсолнечника на Центральной экспериментальной базе (ЦЭБ) ВНИИМК, существуют собственные программы на Донской опытной станции (ДОС) ВНИИМК и Армавирской опытной станции (АОС) ВНИИМК, которые располагаются в разных экологических зонах возделывания подсолнечника. В институте выполняется паспортизация селекционного материала и изучение его генетического разнообразия с помощью микросателлитных маркеров ДНК [18, 19]. Кроме того, 186 линий подсолнечника селекции ВНИИМК были охарактеризованы методом RAD-секвенирования, а также по некоторым морфологическим и фенологическим экономически важным признакам. В результате секвенирования RAD-библиотек и последующего анализа выявлены 65 553 полиморфных варианта, включая SNP и INDEL. Анализ показал значительное генетическое и фенотипическое разнообразие исходного селекционного материала подсолнечника, созданного

во ВНИИМК [7]. Однако исследования генетического разнообразия новых селекционных линий до сих пор не проводились, не изучены межпопуляционные различия между пулами линий из разных филиалов института.

Цель исследований – генотипирование линий подсолнечника, созданных при реализации селекционных программ ЦЭБ ВНИИМК, ДОС ВНИИМК и АОС ВНИИМК, и оценка их генетического разнообразия с помощью микросателлитных локусов.

Научная новизна – получение новых данных о генетическом разнообразии современных линий подсолнечника, селекция которых осуществлялась в разных экологических зонах возделывания культуры.

Материал и методы. В качестве материала для исследований использовали 23 линии селекции ЦЭБ ВНИИМК: Кубанский 86, Кубанский 93, ВК101А, ВК101Б, ВК680А, ВК678А, ВК1кпБ, ВК1кпА, ВК1имиА, ВК1сурА, ВК1сурБ, ВК551, ВК508, ВК585, ВК580, ВК302, ВК301, ВК303, ВК989, ВК304, ВК21кп, ВК23ими, ВК21сур; 17 линий селекции ДОС ВНИИМК: ЭД155, ВД541, ЭД114, ЭД110, ЭД788, ВД354, ВД22А, 49А, ЭД399, ВД342, ЭД931, ЭД169, ЭД33, ЭД73, ЭД236, ЭД127, ЭД45; 10 линий селекции АОС ВНИИМК: ВА389, ВА337, ВА760Б, ВА760А, ВА761Б, ВА761А, ВА737, ВА384, ВА568, ВА820. Всего – 23 отцовских и 27 материнских форм гибридов, в некоторых случаях представленных стерильными (А формы) и закрепителями стерильности (Б формы). Образцы Кубанский 86, Кубанский 93 и 49А являются простыми гибридами – материнскими формами трехлинейных гибридов.

ДНК была выделена из семядольных листьев семидневных этиолированных проростков подсолнечника СТАВ-способом [20]. Качество и концентрацию геномной ДНК оценивали с помощью электрофоретического анализа. Для проведения ПЦР использовали 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 мМ трис-НСl, рН 8,8; 16,6 мМ сульфата аммония; 2,5 мМ MgCl₂; 0,01% Tween 20; по 0,2 мМ каждого dNTP; по 10 пМ каждого праймера; 10 нг матричной ДНК и 1 ед. рекомбинантной термостабильной ДНК полимеразы (НПО «Сибэнзим», РФ). Амплификацию выполняли в термоциклере MiniAmp™ plus (Thermo Scientific, США) при следующих температурно-временных режимах: начальная денатурация при 96 °С в течение 2 мин, затем

30-35 циклов при температурно-временном режиме: денатурация при 94 °С – 30 сек, отжиг при 55-60 °С – 40 сек, элонгация при 70 °С – 1 мин, финальная элонгация при 70 °С – 2 мин. Температура отжига была подобрана экспериментальным путем отдельно для каждой пары праймеров. Все образцы были генотипированы с использованием 12 ядерных SSR-маркеров (табл. 1). Детекцию продуктов ПЦР осуществляли электрофорезом в 8%-ном денатурирующем полиакриламидном геле, окрашенном нитратом серебра (AgNO₃). Разделение продуктов амплификации SSR-локусов ORS5, ORS1144, ORS559, HA514, ORS509, полученных с использованием пары праймеров, один из которых был флуоресцентно мечен (FAM, R6G, TAMRA или ROX), осуществляли методом капиллярного электрофореза в денатурирующих условиях на генетическом анализаторе «Нанофор-05» (ИАП РАН, РФ). Размер фрагментов определяли относительно размерного стандарта SD-600 меченным флуоресцентным красителем (Dy-632) с помощью GeneMarker software version 3.0.1. (State College, PA). Программное обеспечение GenAlEx 6.5 использовали для анализа числа аллелей (Na), числа эффективных аллелей (Ne), наблюдаемой гетерозиготности (Ho), ожидаемой гетерозиготности как меры генетического разнообразия (He), генетических дистанций D по Нею. Степень дифференциации между коллекциями ЦЭБ ВНИИМК, ДОС ВНИИМК и АОС ВНИИМК была рассчитана путем анализа молекулярной дисперсии (AMOVA). Статистическую значимость оценивали выполнением 999 перестановок [21]. Индекс полиморфного информационного содержания (PIC) вычисляли с помощью компьютерного программного обеспечения Gene-Calc [22] по формуле:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^l P_i^2 - \sum_{i=1}^{l-1} \sum_{j=i+1}^l 2P_i^2 P_j^2,$$

где P_i , P_j частота i и j аллелей, l – число аллелей.

Оценку генетических взаимосвязей проводили в программе Statistica 10.0 (StatSoft) с построением диаграмм методом попарного внутригруппового невзвешенного среднего (UPGMA)¹. Для проведения анализа данные по аллельному состоянию микросателлитных локусов были переведены в бинарную матрицу, в которой амплифицированные фрагменты ДНК оценивали как присутствующие (1) или отсутствующие (0).

Результаты и их обсуждение. SSR-маркеры, использованные в данном исследовании, были выбраны на основании таких критериев, как качество продуктов амплификации, кодоминантность, степень полиморфизма, положение на генетической карте. Всего отобрали 12 пар SSR-праймеров. Для оценки распределения локусов, амплифицированных с помощью этих праймеров в геноме подсолнечника, был проведен поиск их хромосомной локализации в референсном геноме с использованием баз данных NCBI (GenBank) и веб-версии программы Primer-BLAST. Определено, что данный набор достаточно равномерно распределен по геному подсолнечника и предположительно охватывает 11 из 17 хромосом. Для локуса HA1327 определена локализация в трех группах сцепления 3, 6 и 13, однако, только фрагмент размером 214 п.н. учитывался нами как маркерный. И, напротив, для праймерной пары ORS662 было обнаружено 2 полиморфных локуса в разных группах сцепления (учитывали только ORS662₃₅₀) (табл. 1).

Таким образом, из 13 испытанных локусов в исследовании использованы 12.

Для всех линий из разных коллекций были составлены генетические паспорта и определены основные показатели информативности изучаемых SSR-локусов. Поскольку стерильные линии (А формы) и закрепители стерильности (Б формы) имели идентичные генотипы, описывали генотип только одной формы. Для линий подсолнечника коллекции ЦЭБ ВНИИМК использованные пары SSR-праймеров продуцировали 31 аллель, в среднем 2,583 аллеля на локус. Эффективное число аллелей колебалось от 1,105 до 3,089 при среднем значении 2,040. Индекс PIC составил от 0,090 до 0,635, в среднем 0,395. Значения величин Ho и Ne колебались от нуля до 0,100 (в среднем 0,021) и от 0,095 до 0,676 (в среднем 0,482) соответственно (табл. 2).

Число аллелей для линий коллекции АОС ВНИИМК составило 29, в среднем 2,417 на локус. Локус ORS559 был мономорфным. Эффективное число аллелей варьировало от 1,000 до 3,200, в среднем 1,989. Значения PIC изменялись от нуля до 0,711 (в среднем 0,409), Ho и Ne – от нуля до 0,375 (в среднем 0,031) и от нуля до 0,694 (в среднем 0,443) соответственно (табл. 3).

¹STATISTICA (Data Analysis Software System), StatSoft, Inc. Version 10. 2011. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.statsoft.com> (дата обращения: 20.12.2022).

*Таблица 1 – Характеристика SSR-локусов ДНК у изучаемых линий подсолнечника /
Table 1 – Characteristics of sunflower lines DNA SSR loci studied in the work*

<i>Локус / Locus</i>	<i>Хромосома / Chromosome</i>	<i>Ожидаемый размер ампликона, п. н. / Expected amplicon size</i>	<i>ID*</i>	<i>Motus / Motive</i>
ORS509	2	198	NC_035433.2	(AT)8(GT)17
HA1327	3	214	NC_035435.2	(ATT)30
	6	1161		
	13	504		
HA432	4	162	NC_035436.2	(GT)10
HA1796	5	230	NC_035437.2	(ATT)33
ORS1287	8	210	NC_035440.2	(CT)11
ORS1144	10	126	NC_035442.2	(CT)13(CA)8
ORS5	11	311	NC_035443.2	(AAC)
ORS328	11	369	NC_035443.2	(ACAAC)34
ORS559	12	312	NC_035444.1	(AG)6
HA514	17	171	NC_035449.2	(GA)13
ORS811	17	156	NC_035449.2	(CACTCT)12
ORS662 ₂₅₀	9	289	NC_035441.2	-
ORS662 ₃₅₀	1	314	NC_035433.2	(AG)16

* ID – Идентификационный номер нуклеотидной последовательности в базе данных GenBank /

* ID – Nucleotide sequence identification number in the GenBank database

Таблица 2 – Основные показатели информативности изучаемых SSR-локусов у линий подсолнечника коллекции ЦЭБ ВНИИМК /

Table 2 – The main informativity indicators of studied SSR loci in the sunflower lines from the collection of the Central experimental base (CEB) of VNIIMK

<i>Локус / Locus</i>	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>PIC</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>
ORS5	2,000	1,724	0,331	0,000	0,420
ORS1144	2,000	1,980	0,372	0,000	0,495
ORS1287	3,000	2,062	0,424	0,000	0,515
HAR432	3,000	2,299	0,482	0,000	0,565
ORS509	3,000	2,151	0,435	0,000	0,535
HA514	3,000	2,532	0,527	0,000	0,605
ORS811	2,000	1,835	0,351	0,000	0,455
HA1327	2,000	1,923	0,372	0,100	0,480
ORS559	2,000	1,105	0,090	0,000	0,095
HAR1796	2,000	1,782	0,351	0,050	0,439
ORS328	5,000	3,089	0,635	0,050	0,676
ORS662 ₍₃₅₀₎	2,000	1,995	0,372	0,050	0,499
Среднее / Average	2,583±0,260	2,040±0,138	0,395±0,041	0,021±0,010	0,482±0,041

Примечания: Na – число аллелей на локус, Ne – эффективное число аллелей, PIC – индекс полиморфного информационного содержания, Ho – наблюдаемая гетерозиготность, He – ожидаемая гетерозиготность /

Notes: Na – number of alleles per locus, Ne – effective number of alleles, PIC – index of polymorphic information content, Ho – observed heterozygosity, He – expected heterozygosity

Таблица 3 – Основные показатели информативности изучаемых SSR-локусов у линий подсолнечника коллекции АОС ВНИИМК /

Table 3 – The main informativity indicators of studied SSR loci in the sunflower lines from the collection of the Armavir experimental station (AES) of VNIIMK

<i>Локус / Locus</i>	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>PIC</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>
ORS5	2,000	1,882	0,358	0,000	0,469
ORS1144	2,000	1,600	0,304	0,000	0,375
ORS1287	4,000	3,267	0,711	0,000	0,694
HAR432	2,000	1,600	0,304	0,000	0,375
ORS509	2,000	1,600	0,304	0,000	0,375
HA514	4,000	3,200	0,629	0,000	0,688
ORS811	2,000	1,690	0,468	0,000	0,408
HA1327	3,000	2,133	0,468	0,000	0,531
ORS559	1,000	1,000	0,000	0,000	0,000
HAR1796	2,000	2,000	0,500	0,000	0,500
ORS328	3,000	2,462	0,511	0,000	0,594
ORS662 ₍₃₅₀₎	2,000	1,438	0,358	0,375	0,305
Среднее / Average	2,417±0,260	1,989±0,198	0,409±0,054	0,031±0,031	0,443±0,054

* См. примечания к табл. 2 / * Vide notes to table 2

Для линий подсолнечника ДОС ВНИИМК с помощью 12 пар SSR-праймеров получен 31 аллель, в среднем 2,583 аллеля на локус. Эффективное число аллелей колебалось от 1,125 до 3,266 (в среднем 2,011). Индекс PIC

составлял от 0,104 до 0,649 (в среднем 0,416). Величины Ho и He показали значения от нуля до 0,118 (в среднем 0,040) и от 0,111 до 0,694 (в среднем 0,461) соответственно (табл. 4).

Таблица 4 – Основные показатели информативности изучаемых SSR-локусов у линий подсолнечника коллекции ДОС ВНИИМК /

Table 4 – The main informativity indicators of studied SSR loci in the sunflower lines from the collection of L. A. Zhdanov Don experimental station (DES) of VNIIMK

<i>Локус / Locus</i>	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>PIC</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>
ORS5	2,000	1,895	0,367	0,059	0,472
ORS1144	2,000	1,940	0,367	0,000	0,484
ORS1287	2,000	1,742	0,540	0,000	0,426
HAR432	2,000	1,940	0,367	0,000	0,484
ORS509	3,000	1,354	0,280	0,059	0,261
HA514	3,000	2,592	0,530	0,059	0,614
ORS811	3,000	2,321	0,500	0,059	0,569
HA1327	3,000	2,529	0,627	0,071	0,605
ORS559	2,000	1,125	0,104	0,000	0,111
HAR1796	2,000	1,940	0,367	0,000	0,484
ORS328	5,000	3,266	0,649	0,118	0,694
ORS662 ₍₃₅₀₎	2,000	1,486	0,295	0,059	0,327
Среднее / Average	2,583±0,260	2,011±0,171	0,416±0,047	0,040±0,011	0,461± 0,047

* См. примечания к табл. 2 / * Vide notes to table 2

Основные показатели информативности для всех коллекций незначительно отличались друг от друга и были умеренными, в общем характерными для культивируемого подсолнечника [2, 3, 15] (табл. 2, 3, 4). Объединив данные всех коллекций, мы получили общую картину генетического разнообразия объединенной коллекции линий ВНИИМК по микросателлитным

локусам, в которой было выявлено 37 аллелей, в среднем 3,083 аллеля на локус. Эффективное число аллелей составило от 1,094 до 3,290 при среднем значении 2,154. Индекс PIC – от 0,084 до 0,651 (в среднем 0,434), значения величин H_o и H_e колебались от нуля до 0,071 (в среднем 0,030) и от 0,086 до 0,696 (в среднем 0,500) соответственно (табл. 5).

Таблица 5 – Основные показатели информативности SSR-локусов у линий подсолнечника объединенной коллекции ВНИИМК /

Table 5 – The main informativity indicators of studied SSR loci in the sunflower lines from the joint collection of VNIIMK

Локус / Locus	N_a	N_e	PIC	H_o	H_e
ORS5	2,000	1,824	0,345	0,022	0,452
ORS1144	2,000	1,976	0,371	0,000	0,494
ORS1287	5,000	2,360	0,614	0,000	0,576
HAR432	3,000	2,048	0,418	0,000	0,512
ORS509	3,000	1,794	0,382	0,022	0,443
HA514	4,000	2,757	0,563	0,022	0,637
ORS811	3,000	1,995	0,436	0,023	0,499
HA1327	3,000	2,908	0,633	0,071	0,656
ORS559	3,000	1,094	0,084	0,000	0,086
HAR1796	2,000	1,984	0,370	0,022	0,496
ORS328	5,000	3,290	0,651	0,067	0,696
ORS662 ⁽³⁵⁰⁾	2,000	1,824	0,35	0,111	0,452
Среднее/ Average	3,083±0,313	2,154±0,170	0,434±0,045	0,030±0,010	0,500±0,045

* См. примечания к табл. 2 / * Vide notes to table 2

Средние величины показателей информативности в основном увеличивались в ряду коллекций: АОС – ДОС – ЦЭБ – объединенная коллекция ВНИИМК. Исключение составил показатель PIC, значение которого у линий подсолнечника Центральной экспериментальной базы было самым низким по сравнению с кол-

лекциями из Армавирской и Донской опытных станций. Наибольшим разнообразием отличалась коллекция ЦЭБ ВНИИМК. Но если рассматривать все три коллекции как одну общую (объединенную), то ее генетическое разнообразие самое существенное и как источник генетического разнообразия она самая ценная (табл. 6).

Таблица 6 – Изменение средних величин показателей информативности системы маркеров у линий подсолнечника в коллекциях ВНИИМК /

Table 6 – Changes in the average values of informativity indicators of the marker system in the sunflower lines in collections of VNIIMK

Коллекция / Collection	N_a	N_e	PIC	H_o	H_e	Всего аллелей / Alleles in total
АОС / AES	2,417±0,260	1,989±0,198	0,409±0,054	0,031±0,031	0,443±0,054	29
ДОС / DES	2,583±0,260	2,011±0,171	0,416±0,047	0,040±0,011	0,461±0,047	31
ЦЭБ / SEB	2,583±0,260	2,040±0,138	0,395±0,041	0,021±0,010	0,482±0,041	31
Объединенная / Joint	3,083±0,313	2,154±0,170	0,434±0,045	0,030±0,010	0,500±0,045	37

* См. примечания к табл. 2 / * Vide notes to table 2

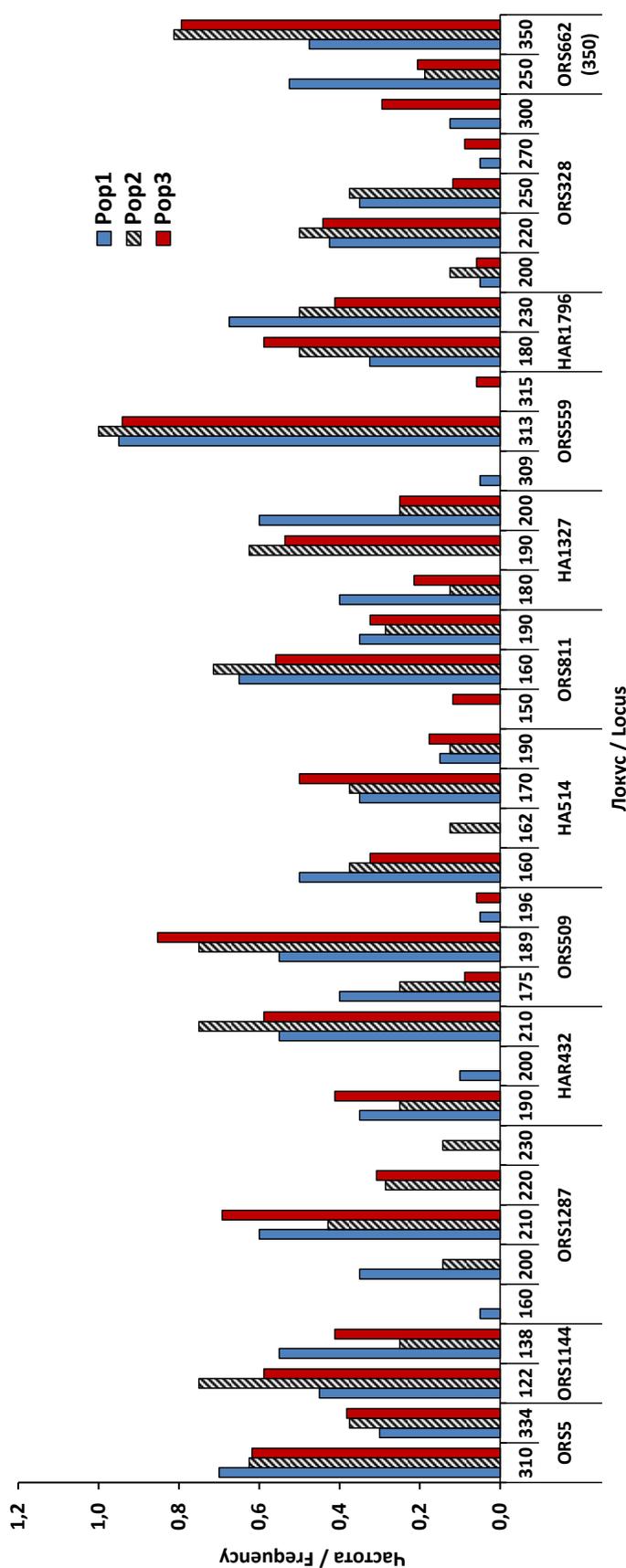


Рис. 1. График частоты аллелей 12 SSR-локусов в коллекциях линий подсолнечника: Pop 1 – ЦЭБ ВНИИМК; Pop 2 – АОС ВНИИМК; Pop 3 – ДОС ВНИИМК /
Fig. 1. Graph of the allele frequency of 12 SSR loci in the collections of sunflower lines: Pop 1 – СЕВ of VNIIMK; Pop 2 – АЕС of VNIIMK; Pop 3 – DES of VNIIMK

Минорные аллели с частотой встречаемости 0,05 – ORS1287₁₆₀, ORS509₁₉₆, ORS559₃₀₉, ORS328₂₀₀ и ORS328₂₇₀ были обнаружены в коллекции ЦЭБ ВНИИМК, ORS509₁₉₆, ORS559₃₁₅ и ORS328₂₀₀ – ДОС ВНИИМК. Различия в частотах аллелей между селекционными коллекциями были очевидны не только при наблюдении значений частоты минорных аллелей, но и при изучении графиков частот аллелей. Частота аллелей полиморфных локусов в коллекциях изменялась от 0,05 до 0,95 (рис. 1). Количество общих аллелей между разными коллекциями составило 23.

Дальнейшие расчеты выполняли с допущением, что каждая коллекция представляет собой отдельную популяцию. Такой прием используется для описания коллекций линий подсолнечника, происходящих от разных оригинаторов [3, 23]. Анализ молекулярной вариации AMOVA, характеризующий генетическую дифференциацию изучаемых коллекций, выявил, что 3 % от общей дисперсии обусловлено различиями между коллекциями, 6 % – внутри линий, а большая часть дисперсии (91 %) – различиями между линиями внутри каждой коллекции (табл. 7). Внутрелинейная изменчивость обусловлена наличием в коллекциях образцов, которые являются материнскими формами трехлинейных гибридов. По сути, эти образцы представляют собой простые гибриды и, следовательно, гетерозиготны по некоторым локусам.

Генетические дистанции D по Нею между коллекциями линий еще достаточно невелики. Дистанция между коллекциями ЦЭБ и АОС составила 0,118, ДОС и АОС – 0,042. Наибольшая генетическая дистанция обнаружена между коллекциями ЦЭБ и ДОС – 0,120.

Таблица 7 – Результаты анализа общего генетического разнообразия (АМОВА) линий подсолнечника коллекций ЦЭБ, АОС, ДОС ВНИИМК /

Table 7 – Results of the AMOVA analysis of the total genetic diversity of the sunflower lines from the collections of the CEB, AES, and DES of VNIIMK

Источник разнообразия / Source of diversity	Число степеней свободы (df) / Number of the degree of freedom	Сумма квадратов (SS) / Sum of squares	Среднее квадратов (MS) / Average of squares	Доля в общей дисперсии / Part in total dispersion,		P
				абс. значения / absolute value	%	
Между коллекциями / Among collections	2	17,804	8,902	0,104	3,0	0,08
Внутри коллекций / Inside collections	42	250,307	5,960	2,891	91,0	
Внутри линий / Inside lines	45	8,000	0,178	0,178	6,0	
Всего / Total	89	276,111	-	3,173	100,0	

Для определения генетических взаимоотношений между линиями подсолнечника для каждой и объединенной коллекции выполнен кластерный анализ с построением диаграмм методом попарного внутригруппового невзвешенного среднего (UPGMA). Линии ЦЭБ ВНИИМК разделились на 2 кластера на уровне объединения 3,8. В кластер I попали, преимущественно, материнские формы гибридов, за исключением отцовских форм ВК303 и ВК585.

Кластер II формировали исключительно отцовские формы гибридов – носители генов восстановителей фертильности. Пара линий ВК1суп и ВК1клп обладали идентичными генотипами, так же, как и ВК508 и ВК580. Эти линии являются аналогами по отношению друг к другу, что и объясняет их сходство (рис. 2). Генетические дистанции между линиями составили от 0 до 3,8.

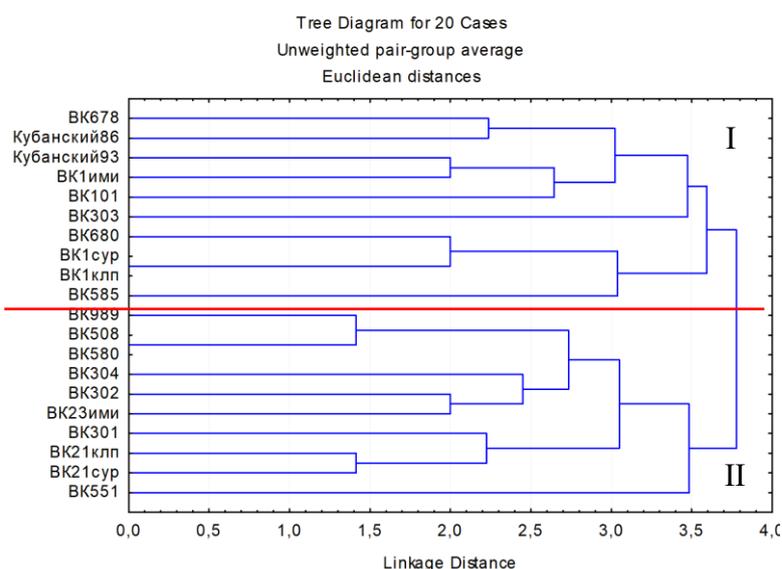


Рис. 2. Дендрограмма генетических дистанций между линиями подсолнечника коллекции ЦЭБ ВНИИМК, построенная методом UPGMA по результатам полиморфизма 12 SSR-локусов /

Fig. 2. Dendrogram of genetic distances between the sunflower lines from the CEB of VNIIMK collection constructed by the UPGMA method based on the results of polymorphism analysis of 12 SSR loci

Линии АОС ВНИИМК разделились на два кластера на уровне объединения 3,7. Как и в случае с ЦЭБ ВНИИМК, материнские формы гибридов попали в один кластер. В этот же кластер были сгруппированы отцовские формы ВА389 и ВА568. Второй кластер формировали

отцовские формы гибридов ВА568, ВА348, ВА820, ВА737 и ВА337. Все линии имели уникальные генотипы по 12 микросателлитным локусам. Генетические дистанции между линиями колебались от 2,2 до 3,7 (рис. 3).

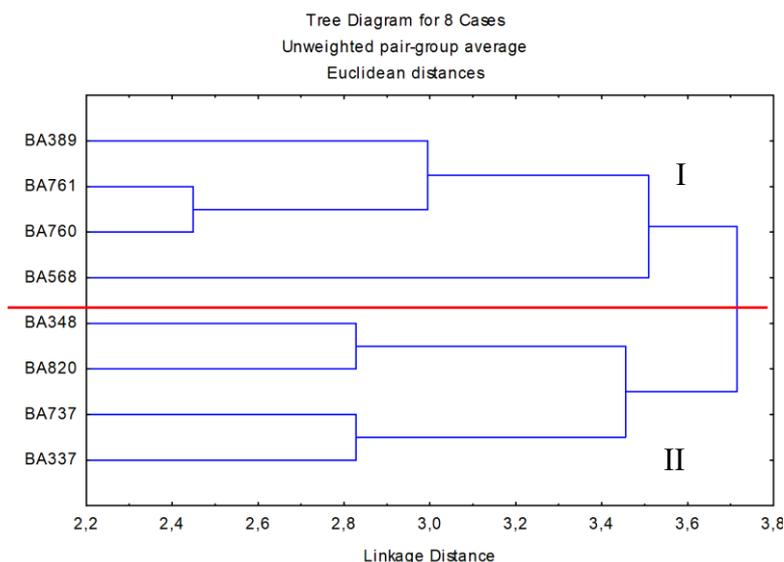


Рис. 3. Дендрограмма генетических расстояний между линиями подсолнечника коллекции АОС ВНИИМК, построенная методом UPGMA по результатам анализа полиморфизма 12 SSR-локусов /
Fig. 3. Dendrogram of genetic distances between the sunflower lines from the AES of VNIIMK collection constructed by the UPGMA method based on the results of polymorphism analysis of 12 SSR loci

Линии подсолнечника коллекции АОС ВНИИМК были разделены на две основные группы на уровне объединения 3,7. В первом кластере (I) группировались материнские и отцовские линии. Второй кластер (II) форми-

ровали преимущественно материнские линии, за исключением отцовской ЭД788. Все линии имели уникальные генотипы по 12 микросателлитным локусам, генетические дистанции между ними составили от 1,5 до 3,7 (рис. 4).

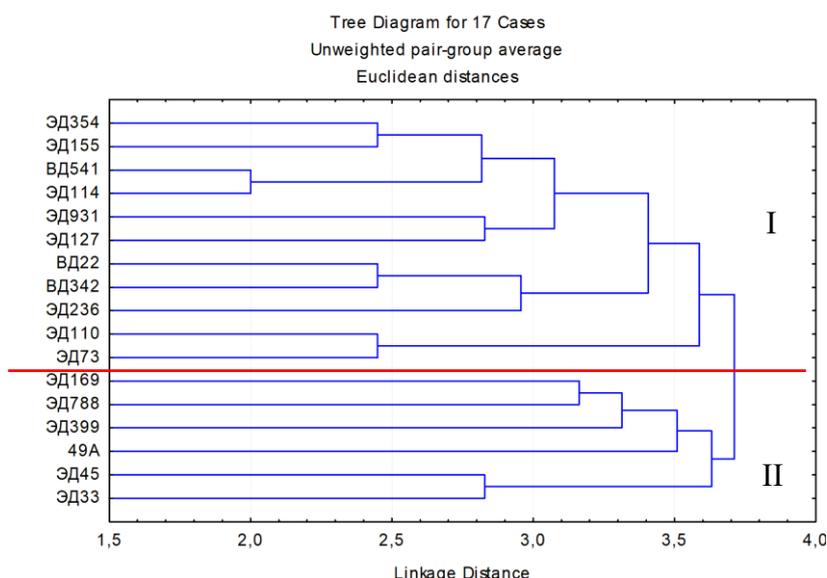


Рис. 4. Дендрограмма генетических расстояний между линиями подсолнечника коллекции АОС ВНИИМК, построенная методом UPGMA по результатам анализа полиморфизма 12 SSR-локусов /
Fig. 4. Dendrogram of genetic distances between the sunflower lines from the DES of VNIIMK collection constructed by the UPGMA method based on the results of polymorphism analysis of 12 SSR loci

Кластерный анализ объединённых трех коллекций иллюстрирует предыдущие выводы о генетическом разнообразии линий внутри и между коллекциями. Линии объединенной коллекции ВНИИМК были разделены на две основные группы на уровне объединения 3,9.

В первый кластер вошли образцы из разных коллекций. В то же время группировка в один из субкластеров второго кластера произошла предпочтительно по принципу принадлежности к определенной коллекции. Так, субкластер Па объединил отцовские формы гибридов ЦЭБ

ВНИИМК, что говорит о генетической близости этих линий между собой. Что же касается идентификации линий, то при использовании

данного набора ДНК-маркеров не удалось добиться 100%-ной отличимости. Процент уникальности составил 96 (рис. 5).

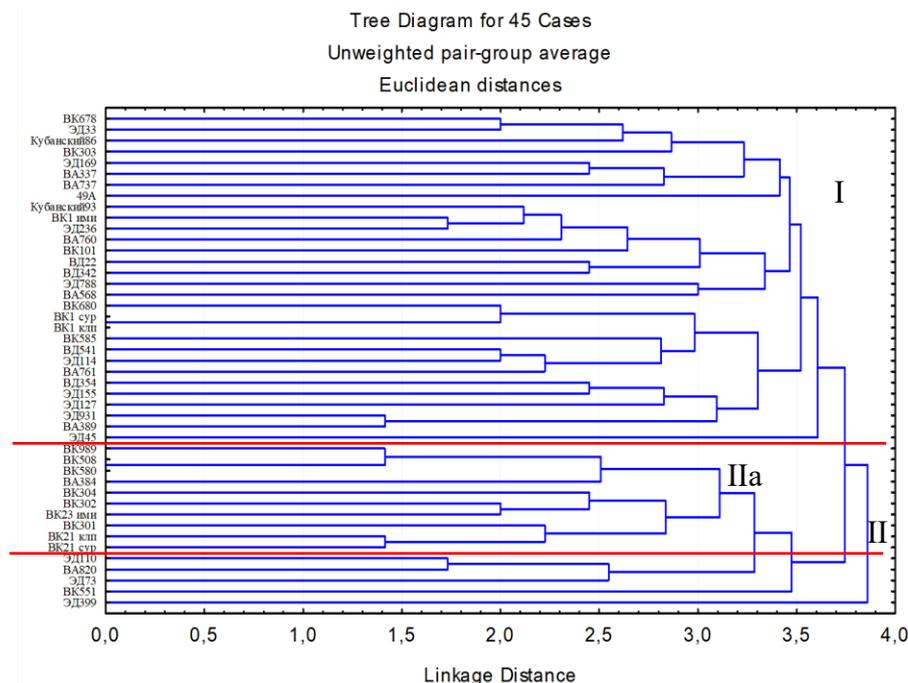


Рис. 5. Дендрограмма генетических расстояний между линиями подсолнечника объединённой коллекции ВНИИМК, построенная методом UPGMA по результатам анализа полиморфизма 12 SSR-локусов /

Fig. 5. Dendrogram of genetic distances between the sunflower lines from the combined collection of VNIIMK, constructed by the UPGMA method based on the results of polymorphism analysis of 12 SSR loci

Отобранные для исследования микросателлитные локусы являются пригодными для оценки генетического разнообразия линий селекции ВНИИМК. Они достаточно равномерно распределены по геному подсолнечника, в основном кодоминантны, имеют от двух до пяти аллелей на локус. Эффективность использования микросателлитов, по сравнению с другими маркерами, подтверждена во многих исследованиях как на подсолнечнике, так и на других культурах [3, 12, 13, 24]. Чтобы понять генетическое разнообразие и его распределение в восьми популяциях для рода цветковых растений *Cedrela balansae*, использовали два молекулярных маркера: семь SSR и 382 полиморфных AFLP. Ожидаемая гетерозиготность H_e составила 0,643 и 0,222 для SSR и AFLP соответственно и обнаружена высокая корреляция между маркерами AFLP и SSR [24].

Для коллекций инбредных линий, как и ожидалось, наблюдаемая гетерозиготность была очень низкой в каждой изученной группе. Генетическое разнообразие линий как отдельных коллекций, так и объединённой было умеренным (для объединённой коллекции среднее значение H_e составило 0,500, PIC – 0,434,

H_a – 3,083). Такие показатели характерны для культивируемого подсолнечника. Например, генетическое разнообразие шести болгарских инбредных линий, оцененное по 18 микросателлитным маркерам, было небольшим (H_e – 0,42) [25]. При анализе 84 линий-восстановителей фертильности и 32 носителей цитоплазматической мужской стерильности (ЦМС) линий подсолнечника из США, а также популярных индийских родительских линий с помощью 39 пар SSR-праймеров было выявлено 139 аллелей, в среднем 3,56 аллеля на локус, среднее значение H_e составило 0,45 [16]. При использовании 42 SSR-маркеров для анализа 137 инбредных линий подсолнечника, 13 свободно опыляемых популяций и 20 смешанных популяций из Аргентины Ц. В. Филиппи с соавт. (C. V. Filippi et al.) [3] показали, что индекс H_e равен 0,51, при среднем количестве аллелей на локус 4,95. Л. С. Жанг с соавт. (L. S. Zhang et al.) [17] использовали 78 SSR-локусов для оценки генетической изменчивости среди набора из 124 инбредных линий подсолнечника, включавшего 67 стерильных и 57 восстановителей фертильности. Авторы выявили в общей сложности 276 аллелей, в среднем 3,5 аллеля на локус.

Индекс полиморфного информационного содержания на локус варьировал от 0,06 до 0,81 при среднем значении 0,51. Некоторую однородность среди линий международных селекционных центров INTA, INRA, USDA-UBC и узкую генетическую базу для современной селекции подсолнечника отмечали в своих исследованиях Ц. В. Филиппи с соавт. (C.V. Filippi et al.) [2]. Более значительные показатели генетического разнообразия были выявлены среди 42 генотипов подсолнечника молдавской селекции. С использованием 10 пар микросателлитных праймеров в коллекции было идентифицировано в среднем 17,9 аллелей на локус, среднее значение PIC составило 0,89 [14]. Несмотря на некоторые исключения, в целом очевиден невысокий уровень генетического разнообразия культивируемого подсолнечника.

Анализ структуры популяции, проведённый нами для линий из разных селекционных программ ВНИИМК, продемонстрировал, что различия между ними объясняют лишь небольшую часть общей генетической изменчивости. Большая часть изменчивости приходится на различия между линиями. Кластерный анализ не показал прямого соответствия между генетической дифференциацией и происхождением образцов. На дендрограммах видно сходство некоторых генотипов. Минимальные генетические дистанции у линий ЦЭБ ниже (0,0), чем у образцов АОС (2,2) и ДОС (1,5). Для линий ЦЭБ, ДОС и АОС ВНИИМК была характерна группировка материнских и отцовских линий в отдельные кластеры или субкластеры. У объединённой коллекции в один из субкластеров сгруппировались отцовские формы гибридов ЦЭБ ВНИИМК. Линии восстановители фертильности (Rf) и линии с ЦМС зачастую на дендрограммах образуют общие кластеры [15, 17, 26]. Однако есть и исключения. В исследованиях К. Т. Рамя с соавт. (K. T. Ramya et al.) [16] дендрограмма, построенная по результатам анализа 116 линий подсолнечника из США и Индии с использованием 39 SSR-праймеров и основанная на матрице коэффициентов различия, сгруппировала линии ЦМС и

Rf в отдельные кластеры, за исключением кластера А, который состоял из линий ЦМС и пяти линий Rf. Поскольку эффект гетерозиса, чаще всего, наблюдается при скрещивании генетически различающихся родительских форм, полученные нами дендрограммы генетических дистанций, в основном, показывают отличия между родительскими формами гибридов. Это тенденция меньше заметна на дендрограмме для объединённой коллекции. По-видимому, различия между линиями разных коллекций превалируют между различиями по признаку принадлежности к типу родительской формы гибрида. Вместе с тем, коллекции линий отдельных селекционных программ не накопили достаточно много изменений, чтобы формировать отдельные кластеры на общей дендрограмме.

Полученные результаты свидетельствуют об умеренном генетическом разнообразии изученных линий ВНИИМК и о существовании небольших различий между коллекциями. Изученные линии объединённой коллекции представляют собой ценный генетический пул в качестве исходного материала. Используя эти данные, можно отбирать разнородный материал из разных коллекций и обмениваться им, проводить направленные скрещивания наиболее отдалённых по генетическим дистанциям генотипов.

Заключение. Все селекционные линии ДОС ВНИИМК и АОС ВНИИМК имеют уникальные генотипы по 12 микросателлитным локусам. В коллекции ЦЭБ ВНИИМК идентичными генотипами обладают линии-аналоги. Основные показатели генетической изменчивости для всех коллекций незначительно отличались друг от друга и были умеренными. Средние величины показателей генетического разнообразия, в основном, увеличивались в ряду коллекций ВНИИМК: АОС – ДОС – ЦЭБ – объединённая коллекция. Число общих аллелей между разными коллекциями составило 23. Различия между программами селекции объясняют лишь малую часть общей генетической изменчивости, большая часть изменчивости приходится на различия между линиями.

References

1. Hübner S., Bercovich N., Todesco M., Mandel J. R., Odenheimer J., Ziegler E., Lee J. S., Baute G. J., Owens G. L., Grassa C. J., Ebert D. P., Ostevik K. L., Moyers B. T., Yakimowski S., Masalia R. R., Gao L., Čalić I., Bowers J. E., Kane N. C., Swanevelter D. Z. H., Kubach T., Muñoz S., Langlade N. B., Burke J. M., Rieseberg L. H. Sunflower pan-genome analysis shows that hybridization altered gene content and disease resistance. *Nature Plants*. 2019;5:54-62. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0329-0>
2. Filippi C. V., Merino G. A., Montecchia J. F., Aguirre N. C., Rivarola M., Naamati G., Fass M. I., Álvarez D., Di Rienzo J., Heinz R. A., Contreras Moreira B., Lia V. V., Paniago N. B. Genetic diversity, population structure and linkage disequilibrium assessment among international sunflower breeding collections. *Genes*. 2020;11(3):283. DOI: <https://doi.org/10.3390/genes11030283>

3. Filippi C., Aguirre N., Rivas J. G., Zubrzycki J., Puebla A., Cordes D., Moreno M. V., Fusari C. M., Alvarez D., Heinz R. A., Hopp H. E., Paniego N. B., Lia V. V. Population structure and genetic diversity characterization of a sunflower association mapping population using SSR and SNP markers. *BMC Plant Biology*. 2015;15:52. URL: <https://bmcplantbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12870-014-0360-x>
4. Paniego N., Echaide M., Muñoz M., Fernández L., Torales S., Faccio P., Fuxan I., Carrera M., Zandomeni R., Suárez E. Y., Hopp H. E. Microsatellite isolation and characterization in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Genome*. 2002;43:34-43. DOI: <https://doi.org/10.1139/g01-120>
5. Tang S., Yu J.-K., Slabaugh B., Shintani K., Knapp J. Simple sequence repeat map of the sunflower genome. *Theoretical and Applied Genetics*. 2002;105:1124-1136. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-002-0989-y>
6. Yu J., Tang S., Slabaugh M. B., Heesacker A., Cole G., Herring M., Sopeer J., Han F., Chu W.-C., Webb D. M., Thompson L., Edwards K. J., Berry S., Leon A. J. Towards saturated molecular genetic linkage map for cultivated sunflower. *Crop Science*. 2002;43(1):367-387. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2003.0367>
7. Goryunov S. V., Goryunov D. V., Chernova A. I., Martynova E. U., Boldyrev S. V., Ayupova A. F., Mazin P. V., Gurchenko E. A., Pavlova A. S., Petrova D. A., Dmitriev A. E., Chebanova Y. V., Gorlova L. A., Demurin Y. N., Garkusha S. V., Mukhina Z. M., Savenko E. G. Genetic and phenotypic diversity of the sunflower collection of the Pustovoit All-Russia Research Institute of Oil Crops (VNIIMK). *Helia*. 2019;42(70):45-60. DOI: <https://doi.org/10.1515/helia-2018-0021>
8. Celik I., Bodur S., Frary A., Doganlar S. Genome-wide SNP discovery and genetic linkage map construction in sunflower (*Helianthus annuus* L.) using a genotyping by sequencing (GBS) approach. *Molecular Breeding*. 2016;36(9): 133. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11032-016-0558-8>
9. Corbi J., Baack E. J., Dechaine J. M., Seiler G., Burke J. M. Genome-wide analysis of allele frequency change in sunflower crop-wild hybrid populations evolving under natural conditions. *Molecular ecology*. 2018;27(1):233-247. DOI: <https://doi.org/10.1111/mec.14202>
10. Guichoux F., Lagache L., Wagner S., Chaumeil P., Le Ger P., Lepais O., Lepoittevin C., Malausa T., Revardel E., Salin F., Petit R. J. Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources*. 2011;11(4):591-611. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x>
11. Van Inghelandt D., Melchinger A. E., Lebreton C., Stich B. Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 2010;120:1289-99. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1256-2>
12. Würschum T., Langer S. M., Longin C. F. H., Korzun V., Akhunov E., Ebmeyer E., Schachschneider R., Schacht J., Kazman E., Reif J. C. Population structure, genetic diversity and linkage disequilibrium in elite winter wheat assessed with SNP and SSR markers. *Theoretical and Applied Genetics*. 2013;126:1477-1486. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-013-2065-1>
13. Hamblin M. T., Warburton M. L., Buckler E. S. Empirical comparison of simple sequence repeats and single nucleotide polymorphisms in assessment of maize diversity and relatedness. *PLoS One*. 2007;2(12):e1367. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001367>
14. Duca M., Port A., Cucereavî A., Şestacova T. SSR markers assessment in estimation of genetic polymorphism in sunflower. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. 2015;(1):70-77. URL: <https://ijarbs.com/pdfcopy/jan2015/ijarbs10.pdf>
15. Ahmed H. G. M.-D., Rizwan M., Naem M., Khan M. A., Baloch F. S., Sun S., Gyuhwa C. Molecular characterization and validation of sunflower (*Helianthus annuus* L.) hybrids through SSR markers. *PLoS ONE*. 2022;17(5):e0267383. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0267383>
16. Ramya K. T., Vishnuvardhan Reddy A., Sujatha M. Agromorphological and molecular analysis discloses wide genetic variability in sunflower breeding lines from USDA, USA. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2019;79(02):444-452. DOI: <https://doi.org/10.31742/IJGPB.79.2.8>
17. Zhang L. S., Clerc V. Le, Li S., Zhang D. Establishment of an effective set of simple sequence repeat markers for sunflower variety identification and diversity assessment. *Canadian Journal of Botany*. 2005;83(1):66-72. DOI: <https://doi.org/10.1139/b04-155>
18. 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;(3(179)):27-34. DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-3-179-27-34> EDN: DRHVMR
19. Guchetl S. Z., Zaitsev N. I., Frolov S. S., Frolova I. N., Kuznetsova E. S. Genotyping of sunflower inbred lines and hybrids bred at the Armavirskaya experimental station using SSR-loci. *Maslichnye kul'tury = Oil crops*. 2019;(3(179)):27-34. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-3-179-27-34>
19. Гучетль С. З., Антонова Т. С., Арасланова Н. М., Челюстникова Т. А., Питинова Ю. В. Молекулярно-генетическое разнообразие коллекции 14 линий – доноров устойчивости подсолнечника к расе G заразики на основе изоферментных и SSR-локусов. *Масличные культуры*. 2022;(1(189)):3-10. DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2022-1-189-3-10> EDN: FBODCY
20. Guchetl S. Z., Antonova T. S., Araslanova N. M., Chelyustnikova T. A., Pitinova Yu. V. Molecular-genetic diversity of the collection of 14 sunflower lines – donors of resistance to broom-rape race G based on isoenzymes and SSR-loci. *Maslichnye kul'tury = Oil crops*. 2022;(1(189)):3-10. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2022-1-189-3-10>

20. 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;81(24):8014-8018. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.81.24.8014>

21. Peakall R., Smouse P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics. 2012;28(19):2537-2539. URL: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>

22. Binkowski J., Miks S. Gene-Calc [computer software]. URL: <https://gene-calc.pl/pic>

23. Mandel J. R., Dechaine J. M., Marek L. F., Burke J. M. Genetic diversity and population structure in cultivated sunflower and a comparison to its wild progenitor, *Helianthus annuus* L. Theoretical and Applied Genetics. 2011;123(5):693-704. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00122-011-1619-3>

24. Soldati M. C., Fornes L., Van Zonneveld M., Thomas E., Zelener N. An assessment of the genetic diversity of *Cedrela balansae* C. DC. (*Meliaceae*) in Northwestern Argentina by means of combined use of SSR and AFLP molecular markers. Biochemical Systematics and Ecology. 2013;47:45-55. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2012.10.011>

25. Hvarleva Tz., Bakalova A., Chepinski I., Hristova-Cherbadiji M., Hristov M., Atanasov A. Characterization of Bulgarian sunflower cultivars and inbred lines with microsatellite markers. Biotechnology and Biotechnological Equipment. 2007;21(4):408-412. DOI: <https://doi.org/10.1080/13102818.2007.10817484>

26. Челюстникова Т. А. Полиморфизм микросателлитных локусов в генотипах культурного и дикорастущего подсолнечника. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2008;(2(139)):19-22.

Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=12224193> EDN: KHNGBR

Chelyustnikova T. A. Polymorphism of microsatellite loci in inbred lines of cultivated sunflower and some its wild species. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tekhnicheskij byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur* = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2008;(2(139)):19-22. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=12224193>

Сведения об авторах

✉ **Гучетль Саида Заурбиевна**, кандидат биол. наук, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта», ул. им. Филатова, д. 17, г. Краснодар, Российская Федерация, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2193-5230>, e-mail: saida.guchetl@mail.ru

Головатская Анна Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований, ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта», ул. им. Филатова, д. 17, г. Краснодар, Российская Федерация, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8355-3150>

Рамазанова Светлана Алексеевна, кандидат биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований, ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта», ул. им. Филатова, д. 17, г. Краснодар, Российская Федерация, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1336-7074>

Волошко Анастасия Александровна, лаборант-исследователь лаборатории молекулярно-генетических исследований, ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В. С. Пустовойта», ул. им. Филатова, д. 17, г. Краснодар, Российская Федерация, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5617-2862>

Information about the authors

✉ **Saida Z. Guchetl**, PhD in Biological Science, Head of the Laboratory of Molecular Genetic Research, leading researcher, V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, Filatov st., 17, Krasnodar, Russian Federation, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2193-5230>, e-mail: saida.guchetl@mail.ru

Anna V. Golovatskaya, junior researcher, the Laboratory of Molecular Genetic Research, V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, Filatov st., 17, Krasnodar, Russian Federation, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8355-3150>

Svetlana A. Ramazanova, PhD in Biological Science, leading researcher, the Laboratory of Molecular Genetic Research, V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, Filatov st., 17, Krasnodar, Russian Federation, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1336-7074>

Anastasiya A. Voloshko, laboratory researcher, the Laboratory of Molecular Genetic Research, V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, Filatov st., 17, Krasnodar, Russian Federation, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5617-2862>

✉ – Для контактов / Corresponding author