

Генотипирование сортов масличного льна с использованием системы микросателлитных ДНК-маркеров

© 2020 С. З. Гучетль✉, Т. А. Челюстникова

ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта», г. Краснодар, Российская Федерация

Тенденция к увеличению площади посева масличного льна требует создания новых сортов с высокими показателями экологической пластичности, урожайности и устойчивости к биотическим и абиотическим стрессам. Применение современных биотехнологических подходов, основанных на использовании молекулярных маркеров, может ускорить оценку генетических различий и определение потенциала, исходного для селекции материала. Целью нашего исследования являлась оценка генотипических параметров некоторых сортов масличного льна селекции Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур имени В. С. Пустовойта (ВНИИМК) с использованием системы микросателлитных маркеров. Материалом исследования служили 17 сортообразцов льна. ДНК выделяли с использованием СТАВ буфера. Для идентификации сортов использовали 11 SSR-локусов. В процессе исследования выявлено 10 полиморфных локусов. Суммарное число учтенных аллелей равно 32. Размер аллелей варьировал в диапазоне 111–210 п. н. Число аллелей на локус варьировало от 2 до 6 со средним значением 3,20. Значение индекса полиморфного информационного содержания (PIC) находилось от 0,29 до 0,75 со средним значением параметра 0,51. Эффективное число аллелей для разных локусов определено в диапазоне 1,40–3,94 со средним значением 2,28. Уровень информативности маркерной системы (PIC 0,51) соответствует таковому для идентификации наборов генотипов из коллекций с ограничением в географическом происхождении. Установлены различия в частоте встречаемости аллелей. Дискриминационный потенциал использованной маркерной системы позволил идентифицировать 15 сортообразцов. Два генотипа, имеющие общее происхождение, были идентичны. Оценена степень генетического родства изученных генотипов льна. Полученные результаты послужат основой для последующего конструирования генетических паспортов сортов масличного льна селекции ВНИИМК.

Ключевые слова: лен, ДНК, полимеразная цепная реакция, микросателлиты, идентификация

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта» (тема № 0493-2019-0002).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Гучетль С. З., Челюстникова Т. А. Генотипирование сортов льна масличного с использованием системы микросателлитных ДНК маркеров. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2020;21(5):531-539. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.5.531-539>

Поступила: 06.07.2020

Принята к публикации: 26.08.2020

Опубликована онлайн: 22.10.2020

Genotyping oil flax varieties using the microsatellite DNA marker system

© 2020. Saida Z. Guchetl✉, Tatyana A. T. Chelyustnikova

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

The tendency to increase crop acreage of oil flax requires the development of new varieties with high indicators of ecological plasticity, productivity and resistance to biotic and abiotic stresses. The application of modern biotechnological approaches based on the use of molecular markers can accelerate the assessment of genetic differences and the determination of potential of the source material for breeding. The research was aimed at assessment of the genotyping parameters of some oil flax varieties of VNIIMK breeding using the system of microsatellite markers. Seventeen variety samples of flax were used as the material for the research. DNA was isolated using CTAB buffer. Eleven SSR loci were used for the identification of varieties. Ten polymorphic loci were identified during the research. The total number of counted alleles is 32. The size of alleles varied in the range of 111–210 bps. The number of alleles per locus ranged from 2 to 6 with an average value of 3.20. The value of the index of polymorphic information content (PIC) was from 0.29 to 0.75 with an average parameter value of 0.51. The effective number of alleles for different loci is determined in the range of 1.40–3.94 with an average value of 2.28. The level of information content of the marker system (PIC 0.51) corresponds to that for identifying sets of genotypes from collections with a limitation in geographical origin. There were established differences in the frequency of occurrence of alleles. The discriminatory potential of the used marker system allowed to identify 15 variety samples. Two genotypes with common origin were identical. The degree of genetic relatedness of the studied flax genotypes has been evaluated. The obtained results will serve as the basis for the subsequent construction of genetic passports of oil flax varieties of VNIIMK breeding.

Keywords: flax, DNA, polymerase chain reaction, microsatellites, identification

Acknowledgement: the research was carried out under the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation as a part of the state assignment of the V. S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops (theme No. 0493-2019-0002).

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Conflict of interest: the authors stated that there was no conflict of interest.

For citation: Guchetl S. Z., TChelyustnikova T. A. Genotyping oil flax varieties using the microsatellite DNA marker system. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2020;21(5):531-539. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2020.21.5.531-539>

Received: 06.07.2020

Accepted for publication: 26.08.2020

Published online: 22.10.2020

Лен является одной из наиболее популярных масличных культур в мире. Основные его производители – Канада, Индия, Китай, Эфиопия, США. В России с начала 21 века наблюдается возрождение этой культуры. Посевные площади масличного льна на территории России в 2019 году, по данным Росстата, в хозяйствах всех категорий находились на уровне 814,7 тыс. га. За год размеры площадей выросли на 9,3 %, за 5 лет – на 63,6 %, за 10 лет – в 4,5 раза. В 2001 году посевы льна занимали всего 8,7 тыс. га¹. Тенденция к увеличению площади посева культуры требует создания новых сортов с высокими показателями экологической пластичности, урожайности и устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессам.

Многократный индивидуальный отбор является основным методом селекции льна масличного. Для комбинирования селекционно-ценных признаков проводится внутривидовое скрещивание подходящих родительских форм. Оптимальными родительскими формами признаны те, что имеют различное генеалогическое или экологическое происхождение [1]. Оценка генетического разнообразия материала, вовлекаемого в селекционный процесс, в основном базируется на морфологических и физиологических характеристиках, число которых лимитировано. К тому же они не всегда стабильны и подвержены изменениям в различных условиях окружающей среды. Применение современных биотехнологических подходов, основанных на использовании молекулярных маркеров, может ускорить оценку генетических различий и определение потенциала исходного для селекции материала. В качестве инструментов молекулярного маркирования льна используются системы идентификации генотипов на основе поли-

морфизма запасных белков семян [2] и маркеры, основанные на полиморфизме структуры ДНК. Микросателлитные маркеры (SSR) – эффективный инструмент для проведения работ, направленных на изучение генетического разнообразия и сортовой идентификации различных культур [3, 4, 5]. Лен относительно других культурных растений имеет достаточно большую базу данных микросателлитных локусов. Составленная Xin Deng с соавторами (2011) геномная библиотека льна с характеристиками 206 участков геномной ДНК, содержащих микросателлиты [6], регулярно пополняется результатами новых исследований [7, 8].

Потенциал микросателлитных локусов широко используется для решения ряда задач в генетических исследованиях льна. В частности, для картирования генома, определения групп сцепления и положения в них генов важных селекционных признаков [9, 10]. Большое количество SSR-маркеров делает возможным подобрать необходимую и достаточную систему для идентификации образцов из коллекций различного географического и генетического происхождения и проводить исследования по определению уровня их генетического родства [11, 12].

Цель исследования – оценка генотипических параметров некоторых сортов масличного льна селекции ВНИИМК с использованием системы микросателлитных маркеров.

Материал и методы. Материалом исследования служили 17 сортообразцов масличного льна коллекции лаборатории селекции льна ВНИИМК. ДНК выделяли из 10 двухнедельных проростков каждого сорта с использованием СТАВ буфера [13]. ПЦР проводили с использованием реакционной смеси следующего состава: 67 мМ трис-НСl, pH 8,8; 16,6 мМ сульфата аммония; 3 мМ MgCl₂; 0,01 %

¹Посевные площади льна-кудряша (лен масличный) в России. Итоги 2019 года. 2019. [Электронный ресурс]. URL: <https://ab-centre.ru/news/posevnye-ploschadi-lna-kudryasha-len-maslichnyy-v-rossii-itogi-2019-goda> (дата обращения: 01.07.2020).

Tween 20; по 0,2 мМ каждого из дезоксирибонуклеозидфосфатов; 10 пМ праймера; 10 нг матричной ДНК и 1 ед. рекомбинантной термостабильной ДНК полимеразы (Сибэнзим, Москва). Амплификацию проводили в термоциклере S1000™ (BioRad, США) при следующих условиях: начальная денатурация при 96 °С в течение 90 сек; затем 35 циклов при соблюдении температурно-временного режима: 94 °С в течение 30 сек; 58-60 °С в течение 40 сек, 70 °С в течение 60 сек; финальная элонгация при 70 °С в течение 120 сек. Температура отжига в диапазоне 58-60 °С была подобрана в соответствии с нуклеотидной последовательностью праймеров. Для амплификации использовали праймеры, последовательности которых приведены в работе [14].

Электрофорез продуктов амплификации проводили в 8 % неденатурирующем полиакриламидном геле, приготовленном с 1 х ТБЕ буфере, в камере для вертикального электрофореза (VE-20, ДНК-технология, Россия). Окрашивали гель бромистым этидием. Визуализировали и документировали результаты электрофореза, используя цифровую систему BIO-PRINT (Vilber Lourmat, Франция). Размер фрагментов ДНК в парах нуклеотидов (п. н.) определяли с использованием программного обеспечения системы BIO-CAPTURE (Vilber Lourmat, Франция) относительно маркера длины фрагментов ДНК GeneRuler 100 bp DNA Ladder Thermo Scientific.

Дискриминационную силу используемой маркерной системы вычисляли по формулам, приведенным в работе [14]. Кластерный анализ выполнен Ward методом. Обработка результатов, графическое построение дендрограммы проведено с помощью пакета программ Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение. К настоящему времени разработано достаточно большое количество SSR-маркеров генома льна (*Linum usitatissimum* L.) [6, 7]. Для оценки возможности их использования в анализе генетического разнообразия коллекции льна ВНИИМК ранее было проведено тестирование 10 маркеров на выборке из 8 образцов [14]. По полученным результатам весь набор, как полиморфный, был использован в качестве системы SSR-маркеров для генотипирования 17 сортов масличного льна.

В процессе исследования выявлено 11 локусов, 10 из которых полиморфны. Только локус Lu21' для использованных сортов проявил себя как мономорфный с амплификацией единственного аллеля размером 106 п. н. Суммарное число учтенных аллелей равно 32. Размер аллелей варьировал в диапазоне 111-210 п. н. Число аллелей на локус варьировало от 2 до 6 со средним значением 3,20. Значение индекса полиморфного информационного содержания (PIC), которое характеризует дискриминационную силу локуса по числу аллелей и относительным частотам их встречаемости, варьировало от 0,29 до 0,75 со средним значением параметра 0,51. Эффективное число аллелей для разных локусов определено в диапазоне 1,40-3,94 со средним значением 2,28. Соответственно, частота встречаемости аллелей в коллекции была разная. Наиболее высокая частота встречаемости наблюдалась для аллели Lu10₁₅₅ и составила 0,823. Наименьшая обнаружена у аллели Lu21₁₃₂ – 0,059. Полученные показатели несколько выше, чем в наших более ранних исследованиях с использованием меньшего количества генотипов [14]. Уровень информативности использованной маркерной системы соответствует таковому для микросателлитных маркерных систем, которые использовались для идентификации наборов генотипов из коллекций с ограничением в географическом происхождении [2, 11]. Показатели информативности использованной маркерной системы приведены в таблице 1.

Дискриминационный потенциал использованной маркерной системы дал возможность для 17 использованных генотипов определить 16 аллельных сочетаний. Идентичным аллельным составом по использованному в качестве инструмента для исследования набору локусов обладали образцы ВНИИМК 620 и ВНИИМК 620 ФН. Происхождение этих сортов объясняет их высокое генотипическое сходство, так как сорт ВНИИМК 620 ФН выведен методом многократного индивидуального отбора из сорта ВНИИМК 620 [15]. Аллельный состав исследованных образцов представлен в таблице 2.

При анализе аллельного состава выявлены образцы, аллельный состав которых по всем локусам был гомогенный (по одной аллели на локус): Нилин, ВНИИМК 620 и ВНИИМК 620 ФН. Большая часть образцов проявила гетерогенность (более одной аллели)

аллельного состава по одному или нескольким локусам. По одному локусу проявили гетерогенность образцы: Снегурок, Сапфир, ВНИИМК 630 и К-4476. По двум локусам – образцы Ы-кор, Август, Бирюза, Авангард и К-4195. По трем локусам были гетерогенными образцы: Ы-117, РФН, ФЛИЗ и ЛМ 98. Самый высокий уровень гетерогенности по шести локусам определен у образца Даник. Гетерогенность может быть следствием гетеро-

зиготности отдельных растений, так как лён относится к самоопылителям с вероятностью энтомофильного и аэрофильного переопыления до 1-5 % [16], или генотипической неоднородности образцов. Генотипическая неоднородность характерна не только для сортов-популяций культур с перекрестным опылением, но и для факультативных самоопылителей, если в структуру сорта входит несколько биотипов, как выявлено для некоторых сортов рапса [17].

Таблица 1 – Показатели информативности микросателлитных локусов /
Table 1 – Information indicators of microsatellite loci used in the research

<i>Локус / Locus</i>	<i>Число аллелей / Number of alleles</i>	<i>Длина аллели, п. н. / Allele length, bps</i>	<i>Частота аллелей / Allele frequency</i>	<i>Эффективное число аллелей / Effective number of alleles</i>	<i>PIC</i>
Lu1	3	173 162 151	0,462 0,076 0,462	2,33	0,57
Lu3	2	172 159	0,235 0,765	1,56	0,36
Lu7	2	151 143	0,588 0,412	1,95	0,49
Lu8	6	210 184 173 160 153 116	0,043 0,087 0,130 0,261 0,087 0,391	3,91	0,74
Lu9	3	165 161 113	0,048 0,333 0,619	2,02	0,51
Lu10	2	164 155	0,176 0,823	1,41	0,29
Lu11	2	162 118	0,227 0,772	1,55	0,35
Lu21	3	153 145 132	0,588 0,352 0,059	2,11	0,53
Lu24	3	164 159 111	0,200 0,150 0,650	2,06	0,51
Lu25	6	210 194 189 183 174 140	0,043 0,086 0,130 0,260 0,086 0,391	3,94	0,75
<i>Среднее / Average</i>	3,20	-	-	2,28	0,51

Таблица 2 – Аллельный состав микросателлитных локусов исследованных образцов льна масличного /
Table 2 – Allelic composition of microsatellite loci of the studied oil flax samples

<i>Copm / Variety</i>	<i>Локус / Locus</i>										
	<i>Lu1</i>	<i>Lu3</i>	<i>Lu7</i>	<i>Lu8</i>	<i>Lu9</i>	<i>Lu10</i>	<i>Lu11</i>	<i>Lu21</i>	<i>Lu21'</i>	<i>Lu24</i>	<i>Lu25</i>
Даник / Danik	173, 151	172	143	116, 153	161, 165	155	118, 162	145	106	159, 164	140, 174
Ы-кор / Y-cor	151	159	143	116, 173	113	155	118	145	106	111	140, 183
ФЛИЗ / FLIZ	173, 151	159	151	116, 173	113	155	118	153	106	111	140, 189
Август / Avgust	173, 162	159	151	184	161	155	118, 162	153	106	164	194
Бирюза / Biryza	151	159	151	116, 160	113	155	118	153	106	111	140, 183
Снегурок / Snegurok	151	159	143	153	161	164	118, 162	145	106	164	174
Сапфир / Sapfir	173	159	151	184	161	155	118, 162	132	106	164	194
Авангард / Avangard	173	159	151	116, 173	113	155	118	153	106	111	140, 189
Нилин / Nilin	173	159	151	160	113	155	118	153	106	111	183
Ы-117 / Y-117	173, 151	172	151	160	113, 161	164	118, 162	145	106	140, 183	183
РФН / RFN	173, 151	159	151	116, 160	113	155	118	153	106	111	140, 183
ЛМ 98 / LM 98	173, 151	172	143	160	113, 161	164	118	145	106	111, 159	183
К-4476	173, 162	172	143	160	113	155	118	153	106	111	189
К-4195	173, 151	159	143	116	113, 161	155	118	153	106	111	140
ВНИИМК 620 / VNIIMK 620	151	159	151	116	113	155	118	153	106	111	140
ВНИИМК 620 ФН / VNIIMK 620 FN	151	159	151	116	113	155	118	153	106	111	140
ВНИИМК 630 / VNIIMK 630	173, 151	159	143	210	113	155	118	145	106	111	210

Как было сказано выше, детектированные использованным набором маркеров аллели проявлялись с различной частотой (табл. 1). Высокая частота встречаемости наблюдалась для аллелей Lu3₁₅₉, Lu10₁₅₅ и Lu11₁₁₈ соответственно 0,76, 0,82 и 0,77. Четыре аллели можно оценить как редкие, так как они обнаружены только у одного из исследуемых образцов. Аллель Lu8₂₁₀ выявлена у сорта ВНИИМК 630, аллель Lu9₁₆₅ – у сорта Даник, Lu21₁₃₂ – у сорта Сапфир, Lu25₂₁₀ – у сорта ВНИИМК 630. Пять аллелей присутствуют в аллельном спектре двух образцов. Аллель Lu8₁₈₄ выявлена у

образцов Август и Сапфир, аллель Lu8₁₅₃ – у сортов Даник и Снегурок, аллель Lu1₁₆₂ – у сорта Август и образца К-4476, аллель Lu25₁₉₄ – у сортов Август и Сапфир, Аллель Lu25₁₇₄ – у сортов Даник и Снегурок (табл. 3).

На основании полученных данных о разнообразии аллельного состояния микросателлитных локусов и частоте встречаемости аллелей оценена степень генетического родства изученных генотипов льна. Для этой цели проведена кластеризация с использованием дисперсионного анализа оценки расстояний между кластерами (метод Ward).

Таблица 3 – Редкие аллели в исследованных сортах масличного льна /
Table 3 – Rare alleles in the studied varieties of oil flax

Аллель / Allele	Генотип / Genotype	Аллель / Allele	Генотип / Genotype
Lu1 ₁₆₂	Август, К-4476 / Avgust, K-4476	Lu21 ₁₃₂	Сапфир / Sapfir
Lu8 ₂₁₀	ВНИИМК 630 / VNIIMK 630	Lu25 ₂₁₀	ВНИИМК-630 / VNIIMK-630
Lu8 ₁₈₄	Август, Сапфир / Avgust, Sapfir	Lu25 ₁₉₄	Август, Сапфир / Avgust, Sapfir
Lu8 ₁₅₃	Даник, Снегурок / Danik, Snegurok	Lu25 ₁₇₄	Даник, Снегурок / Danik, Snegurok
Lu9 ₁₆₅	Даник / Danik		

Графической иллюстрацией генотипических различий между исследованными сортооб-

разцами является дендрограмма, представленная на рисунке.

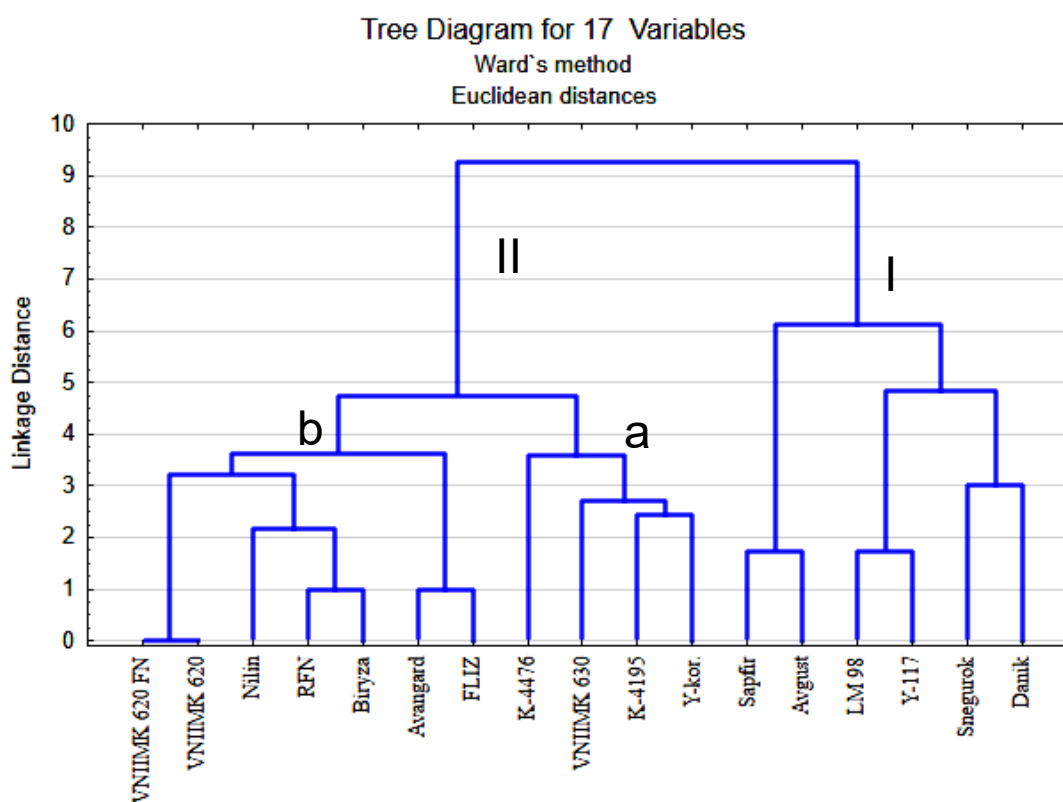


Рис. Дендрограмма распределения в кластеры 17 сортообразцов масличного льна на основании аллельного состава 10 SSR-локусов /

Fig. Dendrogram of the distribution of 17 varieties of oil flax into clusters based on the allelic composition of 10 SSR loci

На дендрограмме на уровне объединения 9,4 можно выделить два кластера. В кластер I вошли сорта Даник, Снегурок, Ы-117, ЛМ 98, Август и Сапфир. Кластер II можно разделить на подкластеры Па и Пб. Подкластер Па объединяет образцы Ы-кор, К-4195, ВНИИМК 630 и К-4476. Подкластер Пб объединяет образцы ФЛИЗ, Авангард, Бирюза, РФН, Нилин, ВНИИМ 620 и ВНИИМК 620 ФН. Дендрограмма характеризует генетические

расстояния между сортообразцами льна, что может представлять интерес для селекционеров в выборе родительских пар скрещиваний при создании новых сортов. Так, к примеру, перспективны для скрещивания сортообразцы льна из максимально отдаленных первого и второго кластеров.

Заключение. По результатам проведенного исследования определен аллельный состав 17 сортообразцов масличного льна

по 10 микросателлитным локусам. Уровень информативности маркерной системы (PIC 0,51) соответствует таковому для идентификации наборов генотипов из коллекций с ограничением в географическом происхождении. Установлены различия в частоте встречаемости аллелей. Большинство сортообразцов показало

себя как гетерогенные по аллельному составу. Графически определены генетические расстояния между сортообразцами масличного льна. Полученные результаты послужат основой для последующего конструирования генетических паспортов сортов льна масличного селекции ВНИИМК.

Список литературы

1. Галкин Ф. М. Лён масличный: селекция, семеноводство, технология возделывания и уборки. Под ред. Н. И. Бочкарёва. Краснодар: РАН, ГНУ ВНИИМК, 2008. 65 с.
2. Егоров С. В., Порхунцова О. А. Оценка генотипов льна масличного по критериям внутренней структуры на основе молекулярных маркеров семян. Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии. 2019;(1):70-74. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37332596>
3. Абугалиева С. И., Волкова Л. А., Ермакбаев К. А., Турусбеков Е. К. Генотипирование коммерческих сортов яровой пшеницы Казахстана с использованием микросателлитных ДНК-маркеров. Биотехнология. Теория и практика. 2012;(2):35-45. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25443417>
4. Супрун И. И., Смыков А. В., Степанов И. В. Использование микросателлитных маркеров для паспортизации и изучения генетических взаимосвязей сортов персика, близких по происхождению. Бюллетень Государственного Никитского ботанического сада. 2019;(130):99-107. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37177466>
5. Gasi F., Sehic J., Grahic J., Hjeltnes S. H., Ordidge M., Benedikova D., Blouin-Delmas M., Drogoudi P., Giovannini D., Hofer M., Kahu K., Kovacs S., Lacis G., Lateur M., Toldam-Andersen T. B., Ognjanov V., Nybom H. Genetic assessment of the pomological classification of plum *Prunus domestica* L. accessions sampled across Europe. Genetic Resources and Crop Evolution. 2020;67:1137-1161. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00901-y>
6. Deng X., Long S., He D., Li X., Wang Y., Hao D., Qiu C., Chen X. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from flax (*Linum usitatissimum* L.). African Journal of Biotechnology. 2011;10(5):734-739. URL: <https://academicjournals.org/journal/AJB/article-abstract/07B915D28252>
7. Soto-Cerda B. J., Saaverda H. U., Navarro C. N., Ortega P. M. Characterization of novel genic SSR markers in *Linum usitatissimum* (L.) and their transferability across eleven *Linum* species. Electronic Journal of Biotechnology. 2011;14(2):4-4. URL: <http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/v14n2-6>
8. Pan G., Chen A., Li J., Huang S., Tang H., Chang L., Zhao L. Genome-wide development of simple sequence repeats database for flax (*Linum usitatissimum* L.) and its use for genetic diversity assessment. Genetic Resources and Crop Evolution. 2020;(67):865-874. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00882-y>
9. Asgarinia P., Cloutier S., Duguid S., Rashid K., Mirlohi A., Banik M., Saeidi G. Mapping quantitative trait loci for powdery mildew resistance in flax (*Linum usitatissimum* L.). Crop Science. 2013;53:2462-2472. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2013.05.0298>
10. Wu J., Zhao Q., Wu G., Zhang S., Jiang T. Development of novel SSR markers for flax (*Linum usitatissimum* L.) using reduced-representation genome sequencing. Front. Plant Sci. 2018;(7). DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02018>
11. Базанов Т. А., Ушаповский И. В., Лемеш В. А., Богданова М. В., Лагуновская Е. В. Генетический полиморфизм современных сортов льна-долгунца (*Linum usitatissimum* L.) российской селекции с использованием SSR маркеров. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2019;180(4):81-87. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=41857092>
12. Perry D. J., Lee S.-J. Multiplexed SSR markers for identification and purity assessment of Canadian flax varieties. Seed Science and Technology. 2016;44(1):156-167. DOI: <https://doi.org/10.15258/sst.2016.44.1.01>
13. Saghai-Maroo 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;81:8014-8018. URL: <https://www.pnas.org/content/pnas/81/24/8014.full.pdf>
14. Челюстникова Т. А., Гучетль С. З., Антонова Т. С. Микросателлитные локусы для идентификации сортов льна масличного селекции ВНИИМК: подбор информативных праймеров и оптимальных условий ПЦР ДНК. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2019;2(178):41-46. DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-2-178-41-46>
15. Овчарова Л. Р., Зеленцов В. С., Рябенко Л. Г., Галкина Г. Г., Скляр С. В., Зеленцов С. В., Мошненко Е. В. Сорт масличного льна ВНИИМК 620 ФН. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2019;(1(177)):146-149. DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-1-177-146-149>

16. Зеленцов С. В., Мошненко Е. В., Рябенко Л. Г., Овчарова Л. Р. Типы и способы естественного опыления льна обыкновенного *Linum usitatissimum* L. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2018;(1(173)):105-113. DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2018-1-173-105-113>

17. Рогожина Т. Г., Анискина Ю. В., Карпачев В. В., Шилов И. А. Использование микросателлитного анализа для выявления биотипов у сортов ярового рапса (*Brassica napus* L.). Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2015;(2(162)):27-33. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24037018>

References

1. Galkin F. M. *Len maslichnyy: selektsiya, semenovodstvo, tekhnologiya vozdel'yvaniya i uborki*. [Oil flax: selection, seed production, technology of cultivation and harvesting]. Pod red. N. I. Bochkareva. Krasnodar: RAN, GNU VNIIMK, 2008. 65 p.

2. Egorov S. V., Porkhuntsova O. A. *Otsenka genotipov l'na maslichnogo po kriteriyam vnutrenney struktury na osnove molekulyarnykh markerov semyan*. [Estimation of genotypes of oilseed flax according to the criteria of internal structure on the basis of molecular markers of seeds]. *Vestnik Belorusskoy gosudarstvennoy sel'skokhozyaystvennoy akademii* = Bulletin of the Belarusian. 2019;(1):70-74. (In Belarus). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37332596>

3. Abugalieva S. I., Volkova L. A., Ermekbaev K. A., Turuspekov E. K. *Genotipirovanie kommercheskikh sortov yarovoy pshenitsy Kazakhstana s ispol'zovaniem mikrosatellitnykh DNK-markerov*. [Genotyping of commercial varieties of spring wheat in Kazakhstan using microsatellite DNA markers]. *Biotehnologiya. Teoriya i praktika*. 2012;(2):35-45. (In Kazakhstan). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=25443417>

4. Suprun I. I., Smykov A. V., Stepanov I. V. *Ispol'zovanie mikrosatellitnykh markerov dlya pasportizatsii i izucheniya geneticheskikh vzaimosvyazey sortov persika, blizkikh po proiskhozhdeniyu*. [Use of microsatellite markers for dna passportization and study of genetic relations of cultivars of peach that are similar in origin]. *Byulleten' Gosudarstvennogo Nikitskogo botanicheskogo sada* = Bulletin of the State Nikitsky Botanical Gardens. 2019;(130):99-107. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=37177466>

5. Gasi F., Sehic J., Grahic J., Hjeltnes S. H., Ordidge M., Benedikova D., Blouin-Delmas M., Drogoudi P., Giovannini D., Hofer M., Kahu K., Kovacs S., Lacis G., Lateur M., Toldam-Andersen T. B., Ognjanov V., Nybom H. Genetic assessment of the pomological classification of plum *Prunus domestica* L. accessions sampled across Europe. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2020;67:1137-1161. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00901-y>

6. Deng X., Long S., He D., Li X., Wang Y., Hao D., Qiu C., Chen X. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from flax (*Linum usitatissimum* L.). *African Journal of Biotechnology*. 2011;10(5):734-739. URL: <https://academicjournals.org/journal/AJB/article-abstract/07B915D28252>

7. Soto-Cerda B. J., Saaverda H. U., Navarro C. N., Ortega P. M. Characterization of novel genic SSR markers in *Linum usitatissimum* (L.) and their transferability across eleven *Linum* species. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2011;14(2):4-4. URL: <http://www.ejbiotechnology.info/index.php/ejbiotechnology/article/view/v14n2-6>

8. Pan G., Chen A., Li J., Huang S., Tang H., Chang L., Zhao L. Genome-wide development of simple sequence repeats database for flax (*Linum usitatissimum* L.) and its use for genetic diversity assessment. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2020;(67):865-874. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00882-y>

9. Asgarinia P., Cloutier S., Duguid S., Rashid K., Mirlohi A., Banik M., Saeidi G. Mapping quantitative trait loci for powdery mildew resistance in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Crop Science*. 2013;53:2462-2472. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2013.05.0298>

10. Wu J., Zhao Q., Wu G., Zhang S., Jiang T. Development of novel SSR markers for flax (*Linum usitatissimum* L.) using reduced-representation genome sequencing. *Front. Plant Sci*. 2018;(7). DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02018>

11. Bazanov T. A., Ushchapovskiy I. V., Lemesh V. A., Bogdanova M. V., Lagunovskaya E. V. *Geneticheskiy polimorfizm sovremennykh sortov l'na-dolguntsa (Linum usitatissimum L.) rossiyskoy selektsii s ispol'zovaniem SSR markerov*. [Genetic polymorphism of modern common flax (*Linum usitatissimum* L.) cultivars developed at russian breeding centers using SSR markers]. *Trudy po prikladnoy botanike, genetike i selektsii* = Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding. 2019;180(4):81-87. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=41857092>

12. Perry D. J., Lee S.-J. Multiplexed SSR markers for identification and purity assessment of Canadian flax varieties. *Seed Science and Technology*. 2016;44(1):156-167. DOI: <https://doi.org/10.15258/sst.2016.44.1.01>

13. Saghai-Marouf 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;81:8014-8018. URL: <https://www.pnas.org/content/pnas/81/24/8014.full.pdf>

14. Chelyustnikova T. A., Guchetl' S. Z., Antonova T. S. *Mikrosatellitnye lokusy dlya identifikatsii sortov l'na maslichnogo seleksii VNNIMK: podbor informativnykh praymerov i optimal'nykh usloviy PTsR DNK*. [Microsatellitelociforidentificationofoilflaxvarietiesofthe breeding of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops: selection of in-formative primers and optimal conditions for DNA PCR]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur* = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2019;2(178):41-46. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-2-178-41-46>
15. Ovcharova L. R., Zelentsov V. S., Ryabenko L. G., Galkina G. G., Sklyarov S. V., Zelentsov S. V., Moshnenko E. V. *Sort maslichnogo l'na VNIIMK 620 FN*. [The variety of oil flax VNIIMK 620 FN]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur* = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2019;1(177):146-149. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-1-177-146-149>
16. Zelentsov S. V., Moshnenko E. V., Ryabenko L. G., Ovcharova L. R. *Tipy i sposoby estestvennogo opyleniya l'na obyknovennogo Linum usitatissimum L.* [The types and methods of natural pollination of flax *Linum usitatissimum* L.]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur* = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2018;1(173):105-113. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2018-1-173-105-113>
17. Rogozhina T. G., Aniskina Yu. V., Karpachev V. V., Shilov I. A. *Ispol'zovanie mikrosatellitnogo analiza dlya vyyavleniya biotipov u sortov yarovogo rapsa (Brassica napus L.)*. [An application of microsatellite analysis for detection of biotypes from spring rapeseed cultivars (*Brassica napus* L.)]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur* = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2015;2(162):27-33. (In Russ.). URL: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=24037018>

Сведения об авторах

✉ **Гучетль Саида Заурбиевна**, кандидат биол. наук, зав. лабораторией 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://sandbox.orcid.org/0000-0002-5033-2295>, e-mail: saida.guchetl@mail.ru

Челюстникова Татьяна Аркадьевна, аналитик 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: <https://orcid.org/0000-0003-3981-5832>, e-mail: тчелюстникова@mail.ru

Information about the authors

✉ **Saida Z. Guchetl**, PhD in Biology, Head of the Laboratory of Molecular Genetic Research, V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, 17 Filatov street, Krasnodar, Russian Federation, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <http://sandbox.orcid.org/0000-0002-5033-2295>, e-mail: saida.guchetl@mail.ru

Tatyana A. Tchelyustnikova, analyst of the Laboratory of Molecular Genetic Research, V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, 17 Filatov street, Krasnodar, Russian Federation, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3981-5832>, e-mail: тчелюстникова@mail.ru

✉ – Для контактов / Corresponding author