



Анализ структуры сортов масличного льна на основе полиморфных микросателлитных локусов

© 2022. С. З. Гучетль[✉], Т. А. Челюстникова, А. А. Аверина

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

*Повышенная рентабельность производства масличного льна является стимулом для создания новых сортов с высокими показателями урожайности и расширения зон возделывания культуры. Ограниченность генетического разнообразия вида *Linum usitatissimum* L., вследствие самоопыления, и исходных форм, используемых при создании новых сортов льна масличного, сдерживают эффективность селекционной работы. Цель исследования – определение генетической структуры сортов масличного льна с использованием системы из 10 микросателлитных локусов. Материалом исследования служили четыре сорта селекции Всероссийского НИИ масличных культур. ДНК выделяли СТАВ-методом. Электрофоретическое разделение ампликонов проводили в 8%-м полиакриламидном геле с последующим окрашиванием бромистым этидием. Основные показатели генетической изменчивости, а также анализ молекулярной вариации AMOVA, показатели F-статистики Райта, анализ главных координат (PCoA) определяли с помощью программы GenAlEx 6.5. Суммарно выявлено 53 аллеля. Для каждого сорта рассчитаны основные показатели генетического разнообразия. По статистическим характеристикам (N_a , N_e , I , F) сорт Нилин является источником наибольшего генетического разнообразия. Для всех сортов соотношение ожидаемой H_e и наблюдаемой H_o гетерозиготности соответствует инбредным популяциям с минимальной долей случайного скрещивания. По аллельному состоянию 10 SSR-локусов сорт Снегурок относится к линейному типу, что соответствует его происхождению. Составлен его генетический паспорт по данным локусам. По результатам анализа молекулярной вариации (AMOVA) 71 % общей дисперсии обусловлен генетическими различиями между сортами, а 29 % – внутрисортными.*

Ключевые слова: *Linum usitatissimum* L., ДНК, SSR, полимеразная цепная реакция, генетическое разнообразие

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 FGRU-2019-0002, № ЕГИСУ НИОКТР АААА-А20-120121890075-8).

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., Аверина А. А. Анализ структуры сортов масличного льна на основе полиморфных микросателлитных локусов. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2022;23(2):184-193. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.2.184-193>

Поступила: 10.01.2022

Принята к публикации: 25.02.2022

Опубликована онлайн: 20.04.2022

Analysis of the structure of linseed flax varieties based on polymorphic microsatellite loci

© 2022. Saida Z. Guchetl[✉], Tatyana A. Chelyustnikova, Anastasia A. Averina

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

*High profitability of linseed flax production is an incentive for developing new varieties with high yield performance and for expansion of cultivation areas. The restricted genetic diversity of *Linum usitatissimum* L. due to self-pollination and of initial forms used by developing the new linseed flax varieties limits the efficiency of the breeding work. The purpose of the research was to determine the genetic structure of linseed flax varieties using a system of 10 microsatellite loci. Four varieties bred by the V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops were used as the research material. DNA was isolated by the CTAB method. Electrophoretic separation of amplicons was performed in 8 % polyacrylamide gel followed by ethidium bromide staining. The determination of the main indicators of genetic variability, analyzed molecular variance (AMOVA), the Wright F-statistics indicators, and the principal coordinates analysis (PCoA) was carried out using the GenAlEx 6.5 program. A total of 53 alleles have been identified. The main indicators of genetic diversity were calculated for each variety. According to statistical characteristics (N_a , N_e , I , F), the variety Nilin is the source of the greatest genetic diversity. For all varieties, the ratio of expected heterozygosity (H_e) and observed heterozygosity (H_o) corresponds to inbred populations with a minimum proportion of random crossing. By the allelic state of the 10 SSR loci, the variety Snegurok belongs to the linear type, which corresponds to its origin. The genetic passport of this variety has been compiled according to these loci. According to the results of the analysis of molecular variance (AMOVA), 71 % of the total dispersion is due to genetic differences between the varieties, and 29 % is due to intra-varietal differences.*

Keywords: *Linum usitatissimum* L., DNA, SSR, polymerase chain reaction, genetic diversity

Acknowledgements: the research was carried out under the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the state assignment of V. S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops (theme No. FGRU-2019-0002, Unified state information system for recording the results of research and development work No. АААА-А20-120121890075-8).

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

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

For citations: Guchetl S. Z., Chelyustnikova T. A., Averina A. A. Analysis of the structure of linseed flax varieties based on polymorphic microsatellite loci. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2022;23(2):184-193. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.2.184-193>

Received: 10.01.2022

Accepted for publication: 25.02.2022

Published online: 20.04.2022

Масличный лен – ценная техническая культура многопрофильного использования. В семенах современных сортов содержится около 50 % технического масла, которое применяется в производстве лакокрасочных материалов, в полиграфической, текстильной и других отраслях промышленности. Высокая доля α -линоленовой жирной кислоты, способствующей снижению в организме уровня холестерина, улучшению жирового и белкового обмена, повышает интерес к использованию льняного масла в пищу в качестве лечебно-профилактической добавки. Лен не только биологически ценная, но и экономически выгодная культура с широким диапазоном почвенно-климатических условий для выращивания. В 2019 году Россия вышла на второе, после Канады, место в мире по производству семян льна, является крупнейшим поставщиком льняного масла на глобальном рынке. По прогнозу ФАО¹, к 2024 году можно ожидать увеличение спроса на мировом рынке на семена льна на 400 тыс. т (+21 % к показателю 2019 года), льняное масло – на 260 тыс. т (более чем вдвое). Повышенная рентабельность производства масличного льна является стимулом к созданию новых высокоурожайных сортов, устойчивых к биотическим и абиотическим стрессам, что будет способствовать расширению ареала возделывания культуры.

Успех селекционной работы в значительной мере определяется исходным материалом, вовлеченным в процесс, степенью его генетического разнообразия. Лен обыкновенный (*Linum usitatissimum* L.), вид, к которому относятся культивируемые сорта, является самоопылителем с вероятностью энтомофильного и аэрофильного переопыления 1-5 % [1]. Самоопыление – весомый фактор, влияющий на обеднение генофонда культуры. При разработке селекционных программ в качестве родительских форм чаще используются сорта с комплексом наиболее ценных признаков, что также приводит к снижению их генетического

разнообразия. Индивидуальный отбор является основным методом отбора у самоопылителей. В результате его применения создаются сорта, выравненные по морфологическим и основным хозяйственно важным признакам. Однако изучение сортов культур-самоопылителей показывает, что многие из них представляют собой смесь биотипов (скорее, генотипов) с разным соотношением растений, относящихся к ним [2].

Генетическое разнообразие масличного льна относительно невелико вследствие самоопыления и ограниченного числа исходных форм [3]. Для вовлечения в селекционные программы в качестве родительских форм генетически удаленных образцов широко проводится генотипирование коллекций исходного материала культурных растений [4, 5, 6]. Основным инструментом в проведении таких работ являются маркерные системы, основанные на нуклеотидной вариабельности генома. В настоящее время чаще других для дифференцировки растений внутри вида, идентификации сортов используют системы микросателлитных маркерных локусов. Микросателлитные локусы (simple sequence repeats – SSR) представлены tandemными повторами простых последовательностей в структуре ДНК, причина полиморфизма которых – сайт-специфическое варьирование длины повтора, обусловленное различием в числе единиц повтора [7]. Микросателлитные локусы обладают свойствами идеальных маркеров: кодоминантны, распределены по всему геному, обладают значительной аллельной вариабельностью, доступны и высокоинформативны.

Для льна разработана достаточно обширная база микросателлитных локусов [8, 9], используемая для изучения генетического разнообразия культурного льна [10] и идентификации его сортов [11].

Ранее нами были проведены работы по формированию информативной маркерной системы с последующим генотипированием коллекции сортообразцов масличного льна [12, 13].

¹ФГБУ «Центр Агроаналитики». Масличные. [Электронный ресурс] URL: <https://specagro.ru/analytics/202005/daydzhest-maslichnye-eksport-produkcii-apk-iz-rossii-v-kitay-prevysil-1-mlrd-doll> (дата обращения: 25.02.2022).

Цель исследований – определение генетической структуры различных сортов масличного льна с использованием системы полиморфных микросателлитных локусов.

Новизна исследований заключается в получении экспериментальных данных о молекулярно-генетической структуре и генетическом разнообразии современных сортов масличного льна для их дальнейшего вовлечения в селекционные программы в качестве родительских форм, а также для развития стратегий по сохранению генетического разнообразия селекционного материала.

Материал и методы. Материалом для исследования выбраны четыре сорта масличного льна селекции Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур имени В. С. Пустовойта (ВНИИМК): Даник, Снегурок, Нилин и Август. Сорт Даник получен методом многократного индивидуального отбора на инфекционном фузариозном фоне из сложной межсортовой гибридной популяции F_8 , характеризуется дружностью цветения и созревания, высокой устойчивостью к полеганию и высокой масличностью [14]. Сорт Нилин получен методом многократного индивидуального отбора на жестком инфекционном фоне из сортообразца Ставропольского НИИСХ. Семена сорта содержат масло пищевого направления использования с низким (2,9 %) содержанием линоленовой кислоты. Высота растений 80 см и выше, что предполагает также использование льносоломы сорта на волокно [15]. Сорт Август создан методом индивидуального отбора из гибридной популяции третьего поколения, отличается очень высокой устойчивостью к фузариозу, осыпанию и полеганию [16]. Линейный сорт Снегурок создан на основе оригинальной технологии полиплоидной рекомбинации генома. Отличается высокой устойчивостью к отрицательным зимним температурам [17]. Сорта Даник, Нилин и Снегурок созданы на Центральной экспериментальной базе ВНИИМК, сорт Август – на Сибирской опытной станции ВНИИМК.

Для оценки генетической структуры сортов использовали выборки объемом до 50 растений каждого сорта. ДНК выделяли из тканей индивидуальных растений в стадии «елочка» описанным ранее СТАВ-методом [13]. В качестве инструмента для исследования использована маркерная система из 10 микросателлитных локусов [12].

Аmplификацию проводили в 25 мкл реакционной смеси, включавшей: 2,5 мкл 10-кратного Taq ДНК-полимеразного буфера, 1 ед. рекомбинантной термостабильной ДНК-полимеразы (Сибэнзим, Москва), 3 мМ $MgCl_2$, по 0,2 мМ каждого из дезоксирибонуклеозидфосфатов; по 10 пМ праймеров, фланкирующих амплифицируемый локус, 0,25 мкл раствора (20 мг/мл) бычьего сывороточного альбумина и 10 нг матричной ДНК. Амплификацию проводили в термоциклере S1000™ (BioRad, США) при соблюдении температурно-временного режима, оптимального для каждой пары праймеров [12].

Электрофоретическое разделение ампликонов проводили в 8%-м полиакриламидном геле, в камерах вертикального электрофореза (VE-20, ДНК-технология, Россия). Окрашивание фракций амплифицированной ДНК осуществляли бромистым этидием. Визуализацию и документирование результатов проводили, используя систему BIO-PRINT (Vilber Lourmat, Франция). Размер фрагментов ДНК определяли с использованием программного обеспечения BioCapture той же системы относительно маркера длины фрагментов ДНК GeneRuler 100 bp DNA Ladder Thermo Scientific. Аллельный вариант локуса обозначали числом п. н. фрагмента ДНК. Основные показатели генетической изменчивости (число аллелей на локус N_a , эффективное число аллелей N_e , наблюдаемая H_o и ожидаемая H_e гетерозиготности, информационный индекс Шеннона I , индекс фиксации F), а также анализ молекулярной дисперсии AMOVA (Analysis of Molecular Variance), анализ главных координат (PCoA) определяли с помощью программы GenAlEx 6.5 [18].

Результаты и обсуждение. В предыдущих исследованиях, при генотипировании 17 сортов масличного льна системой из 10 SSR-локусов, определено, что часть сортов гомогенна по аллельному составу, а часть – гетерогенна. Для генотипирования этих сортов использовали образцы ДНК, которые представляли собой смесь из пяти индивидуальных растений. У гомогенных сортов было выявлено по одной аллели на каждый локус, у гетерогенных – две и более аллелей на локус [13]. Гетерогенность могла быть следствием как гетерозиготности отдельных растений, так и наличием контрастных аллельных вариантов в выборке.

В текущем исследовании для уточнения причины гетерогенности образцов провели амплификацию ДНК отдельных растений. Результаты анализа продуктов амплификации ДНК пяти индивидуальных растений гетеро-

генного сорта Даник по четырем локусам (Lu8, Lu9, Lu11 и Lu24) показали, что растение 1 гетерозиготно по локусам Lu9, Lu11 и Lu24. Растения 2, 3 и 4 гомозиготны и генетически идентичны. Растение 5 генетически отличается от других растений выборки по четырем локусам. Таким образом, очевидно, что проанализированный образец сорта Даник включает как гомозиготные растения с различным аллельным состоянием локусов, так и гетерозиготные.

Для анализа генетической структуры выбраны четыре сорта масличного льна –

Даник, Снегурок, Нилин и Август. В сумме выборка составила 194 растения. С использованием системы из 10 пар праймеров, фланкирующих полиморфные микросателлитные локусы, амплифицировано 53 аллеля. Количество амплифицированных аллелей на локус варьировало от 2 до 10 со средним значением 5,3 аллеля на локус. Наиболее полиморфным оказался локус Lu8, у него выявлено 10 аллелей с частотой встречаемости от 0,01 до 0,96. Наименее полиморфный локус Lu10 – выявлено 2 аллеля с частотой встречаемости 0,37 и 1,00 (табл. 1).

Таблица 1 – Частоты встречаемости аллельных вариантов десяти микросателлитных локусов у сортов масличного льна /

Table 1 – Frequency of occurrence of allelic variants of 10 microsatellite loci in linseed flax varieties

<i>Локус / Locus</i>	<i>Даник / Danik</i>	<i>Снегурок / Snegurok</i>	<i>Нилин / Nilin</i>	<i>Август / August</i>
Lu1	175*-0,21 197-0,79	151-1,00	171-0,65 182-0,31 185-0,01 192-0,02	192-0,40 197-0,56 200-0,02
Lu3	172-0,05 184-0,74 190-0,21	159-1,00	171-0,65 182-0,31 185-0,01 192-0,02	180-0,98 184-0,02
Lu7	120-0,02 143-0,98	143-0,98 151-0,02	143-0,04 151-0,78 162-0,18	143-0,02 151-0,98
Lu8	116-0,87 184-0,12 210-0,02	145-0,01 153-0,96 179-0,03	116-0,06 153-0,02 160-0,56 173-0,24 184-0,04 198-0,04 210-0,03	108-0,04 173-0,15 184-0,81
Lu9	113-0,65 165-0,34	113-0,01 146-0,01 161-0,98	113-1,00	113-0,04 161-0,96
Lu10	155-1,00	164-1,00	155-0,37 164-0,63	155-1,00
Lu11	118-0,66 162-0,34	118-0,01 146-0,01 162-0,98	118-1,00	118-0,58 162-0,42
Lu21	134-0,01 145-0,99	134-0,01 145-0,97 160-0,02	153-0,91 160-0,09	145-0,01 153-0,99
Lu24	118-0,65 164-0,35	111-0,01 128-0,01 164-0,98	111-0,96 160-0,04	164-1,00
Lu25	140-0,53 200-0,44 207-0,02	174-0,96 183-0,04	140-0,02 174-0,02 183-0,02 194-0,50 200-0,43	194-0,13 210-0,87

* – обозначение аллельного варианта локуса / * – designation of the allelic variant of the locus

Число амплифицированных аллелей на локус у сортов различно. Например, по локусу Lu8 амплифицировано 3, 3, 7, 3 аллели для сортов Даник, Снегурок, Нилин и Август соответственно. Наибольшее суммарное число амплифицированных аллелей выявлено у сорта Нилин – 29 аллелей. Для сортов Даник, Снегурок и Август этот показатель оказался одинаковым – 22 аллеля (табл. 2).

Эффективное число аллелей является мерой генетического разнообразия, характери-

зует локусы по частоте встречаемости аллелей. Исследуемые сорта различаются по данному показателю. Для сорта Нилин среднее значение эффективного числа аллелей 1,65, для сорта Даник – 1,52, сорта Август – 1,30, сорта Снегурок – 1,04.

Для каждого сорта были рассчитаны основные показатели генетического разнообразия с использованием программы GenAlEx 6.5 [18]. Полученные результаты представлены в таблице 3.

Таблица 2 – Характеристика изученных SSR-локусов у сортов масличного льна / Table 2 – Characteristics of the analyzed SSR-loci in linseed flax varieties

Локус / Locus	Число наблюдаемых/эффективных аллелей / Number of observed/effective alleles				
	общее / general	в сортах / in varieties			
		Даник / Danik	Снегурок / Snegurok	Нилин / Nilin	Август / Avgust
Lu1	9	2/1,49	1/1,00	4/1,90	5/2,13
Lu3	5	3/1,69	1/1,00	2/1,24	2/1,04
Lu7	4	2/1,04	2/1,04	3/1,55	2/1,05
Lu8	10	3/1,34	3/1,09	7/2,65	3/1,46
Lu9	4	2/1,84	3/1,04	1/1,00	2/1,09
Lu10	2	1/1,00	1/1,00	2/1,88	1/1,00
Lu11	3	2/1,82	3/1,03	1/1,00	2/1,96
Lu21	4	2/1,02	3/1,06	2/1,93	2/1,02
Lu24	5	2/1,84	3/1,04	2/1,09	1/1,00
Lu25	7	3/2,07	2/1,09	5/2,27	2/1,29
Сумма / Total	53	22/15,15	22/10,39	29/16,51	22/13,04
Среднее / Mean	5,3	2,2/1,52	2,2/1,04	2,9/1,65	2,2/1,30

Таблица 3 – Основные показатели генетического разнообразия сортов масличного льна, выявленные микросателлитным анализом / Table 3 – The main indicators of genetic diversity of linseed flax varieties revealed by microsatellite analysis

Сорт / Variety	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>I</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>F</i>
Даник / Danik	2,200±0,200	1,514±0,126	0,455±0,093	0,097±0,058	0,292±0,064	0,566±0,153
Снегурок / Snegurok	2,200±0,291	1,040±0,010	0,096±0,023	0,023±0,006	0,038±0,010	0,364±0,126
Нилин / Nilin	2,900±0,605	1,578±0,183	0,515±0,135	0,019±0,006	0,292±0,074	0,879±0,056
Август / Avgust	2,100±0,277	1,303±0,132	0,295±0,099	0,062±0,044	0,174±0,065	0,655±0,133

Примечания: *Na* – число аллелей на локус, *Ne* – эффективное число аллелей, *I* – информационный индекс Шеннона, *Ho* – наблюдаемая гетерозиготность, *He* – ожидаемая гетерозиготность, *F* – индекс фиксации /

Notes: *Na* – number of observed alleles, *Ne* – number of effective alleles, *I* – Shannon information index, *Ho* – observed heterozygosity, *He* – expected heterozygosity, *F* – Fixation index

Максимальное число аллелей на локус определено для сорта Нилин (2,9±0,6). Сорта Даник, Снегурок, Август по этому показателю малоразличимы. Эффективное число аллелей и индекс Шеннона – показатели, характеризующие уровень внутрисортного генетического

разнообразия, снижаются в направлении сортового ряда Нилин, Даник, Август, Снегурок. Соотношение наблюдаемой (*Ho*) и ожидаемой (*He*) гетерозиготности для всех анализируемых сортов происходит с численным перевесом в сторону ожидаемой гетерозиготности, что

является признаком инбредной популяции, в которой доля случайного скрещивания сведена к минимуму [19]. По статистическим характеристикам (N_a , N_e , I , F) сорт Нилин показал наибольшее генетическое разнообразие.

По численному значению у сорта Снегурок показатели гетерозиготности (H_e , H_o) наименьшие. Сорт морозоустойчивого масличного льна Снегурок получен на основе оригинальной технологии полиплоидной рекомбинации генома (ТПР). Исходным для него растением послужила репродуктивная особь С3 с рекомбинированным геномом, выделенная из колхичинированной тетраплоидной формы сорта Oliver с последующей многолетней полевой оценкой при подзимних посевах по признакам высокой морозоустойчивости и зимостойкости [17]. Анализируя структуру сорта по выборке из 49 индивидуальных растений, определили, что 46 растений гомозиготны, имеют одинаковый аллельный состав по 10 SSR-локусам, два растения гетерозиготны по спектрам пяти локусов, одно растение гомозиготно с чужеродным спек-

тром по четырем локусам. Уровень типичности использованного в исследовании образца 94 %. Три нетипичных растения могут быть результатом перекрестного опыления, либо механического засорения чужеродными семенами. Таким образом, установлен линейный характер сорта Снегурок с небольшой невыровненностью по микросателлитным локусам. На основе полученных результатов можно составить генотипический паспорт сорта по 10 SSR-локусам: Lu1₁₅₁, Lu3₁₅₉, Lu7₁₄₃, Lu8₁₅₃, Lu9₁₆₁, Lu10₁₆₄, Lu11₁₆₂, Lu 21₁₄₅, Lu24₁₆₄, Lu25₁₇₄. Напротив, гетерогенность аллельного состава микросателлитных локусов у остальных изучаемых сортов не позволяет отнести сорта Нилин, Даник и Август к линейным.

Анализ молекулярной вариации (AMOVA) показывает распределение общей генетической изменчивости между исследованными сортами и в их пределах. Установлено, что 71,0 % от общей дисперсии обусловлена различиями между сортами, а 29,0 % – различиями между индивидами внутри сортов (табл. 4).

Таблица 4 – Результаты AMOVA анализа общего генетического разнообразия масличного льна четырех сортов /

Table 4 – Results of the AMOVA analysis of the total genetic diversity of four linseed flax varieties

Источник разнообразия / Source of diversity	Число степеней свободы (df) / Number of the degree of freedom	Сумма квадратов (SS) / Sum of squares	Доля в общей дисперсии / Part in total dispersion		P
			абс. значения / absolute value	%	
Между сортами / Among varieties	1	1601,34	10,92	71,0	0,001
Внутри сортов / Inside varieties	190	840,11	4,42	29,0	-
Всего / Total	193	2441,44	15,34	100,0	-

Расположение сортов по результатам анализа методом главных координат (РСоА) демонстрирует их дистанционность друг от друга и отсутствие генетического родства. Максимально обособленно в системе координат расположен сорт Снегурок (рис. 1).

Таким образом, структура сортов, оцененная системой полиморфных микросателлитных локусов, различна. Сорта Даник, Август и Нилин созданы методом многократного индивидуального отбора из гибридных популяций F₈, F₃ и сортообразца, соответственно, на жестких инфекционных фонах по фенотипическим признакам [14, 15, 16] Индивидуальный отбор является практически основным видом отбора в селекции самоопылителей. В результате его применения создаются сорта, выравненные по морфологическим и основным хозяйственно

важным признакам. Однако изучение генетической структуры сортов культур-самоопылителей показывает, что многие из них представляют собой смесь генотипов с разной долей растений, к ним относящихся [2]. По полученным нами результатам, обозначенные выше сорта представляют собой популяции, состоящие из набора генотипов с различной частотой встречаемости (табл. 1). Нам не удалось представить эти сорта как сумму четко выраженных биотипов подобно тому, как сделано на сортах рапса [20]. Причина внутрисортного генетического разнообразия изученных сортов, возможно, заключается в том, что в процессе индивидуального отбора у самоопылителей достигается гомозиготность по ограниченному числу генов, определяющих основные морфологические и хозяйственные признаки. При этом

сохраняется гетерогенность по части нейтральных к отбору генов [2]. Микросателлитные локусы представляют не кодирующую часть генома, следовательно, нейтральны для селективных отборов по морфологическим и хозяйственным признакам. Некоторые отличия анализированных сортов-популяций по показателям внутрисортного генетического разнообразия (табл. 3) могут быть следствием различных схем скрещиваний и отборов в их происхождении (14, 15, 16, 17). Генетические различия между родительскими формами непосред-

ственно влияют на комбинационную изменчивость гибридного потомства, скорость гомозиготизации сорта и вероятность формирования особей с отличающимися от сортовой нормы признаками [21]. Полученные результаты о популяционной структуре и внутрисортном генотипическом разнообразии могут быть полезны в подборе родительских пар при создании новых сортов, предлагая оптимальную основу для увеличения генетического фонда и развития стратегий по сохранению генетического разнообразия селекционного материала.

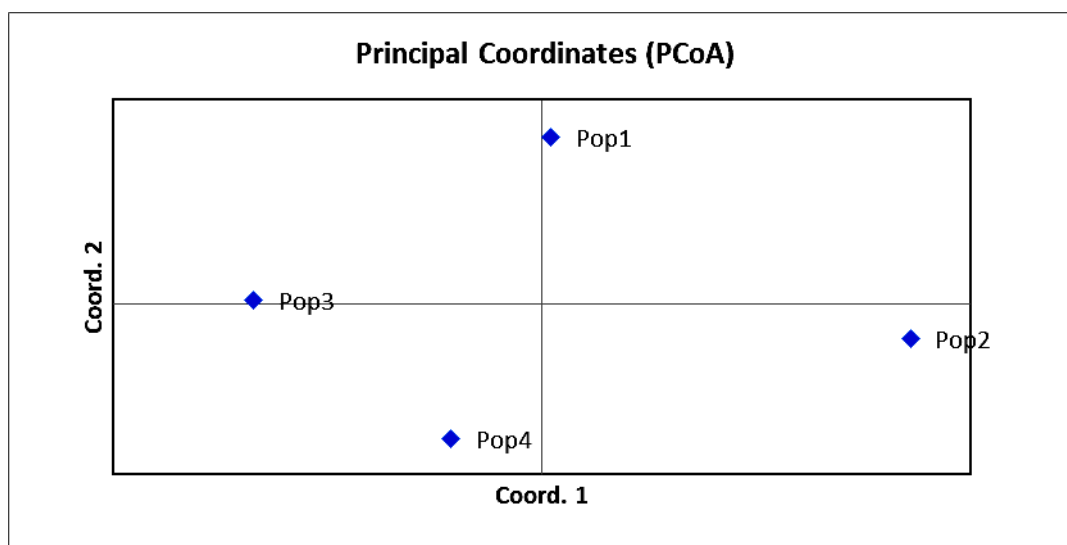


Рис. 1. Распределение сортов масличного льна в пространстве главных координат: Pop1 – Даник, Pop2 – Снегурок, Pop3 – Нилин, Pop4 – Август /

Fig. 1. Distribution of linseed flax varieties in the space of main coordinates: Pop1 – Danik, Pop2 – Snegurok, Pop3 – Nilin, Pop4 – Avgust

Заключение. Анализ генетической структуры сортов масличного льна Даник, Снегурок, Август и Нилин по 10 полиморфным микросателлитным локусам показал следующие результаты. В сумме детектировано 53 аллеля. По статистическим характеристикам (N_a , N_e , I , F) сорт Нилин является источником наибольшего генетического разнообразия. Для всех сортов соотношение ожидаемой H_e и наблюдаемой H_o гетерозиготности соответствует инбредным популяциям с минимальной долей случайного скрещивания. По аллельному состоянию 10 SSR-локусов

сорт Снегурок относится к линейному типу, что соответствует его происхождению. Составлен его генетический паспорт по данным локусам. По результатам анализа молекулярной дисперсии (AMOVA) 71 % общей дисперсии обусловлен генетическими различиями между сортами, 29 % – внутрисортным генетическим разнообразием. Расположение сортов по результатам анализа методом главных координат (PCoA) демонстрирует их дистанцированность и отсутствие генетического родства. Максимально обособленно в системе координат расположен сорт Снегурок.

Список литературы

1. 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>
2. Пухальский В. А. Проблемы генетической теории селекции растений. Вестник ВОГиС. 2005;9(3):306-316. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=9127250>

3. Ущиповский И. В., Лемеш В. А., Богданова М. В., Гузенко Е. В. Особенности селекции и перспективы применения молекулярно-генетических методов в генетико-селекционных исследованиях льна (*Linum usitatissimum* L.). Сельскохозяйственная биология. 2016;51(5):602-616. DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2016.5.602rus>
4. Varshney R. K., Bohra A., Yu J., Graner A., Zhang Q., Sorrells M. E. Designing future crops: genomics-assisted breeding comes of age. Trends in Plant Science. 2021;26(6):631-649. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.03.010>
5. Gasi F., Sehic J., Grahic J., Hjeltnes S. H., Ordidge M., Benedikova D., Blouin-Delmas M., Drogoudi P., Giovannini D., Höfer M., Kahu K., Kovács S., Lācis 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. Супрун И. И., Степанов И. В., Токмаков С. В., Еремин Г. В. Оценка генетического полиморфизма сливы домашней на основе анализа микросателлитных локусов. Генетика. 2019;55(2):165-173. DOI: <https://doi.org/10.1134/S0016675819010144>
7. Aiello D., Ferradini N., Torelli L., Volpi C., Lambalk J., Russi L., Albertini E. Evaluation of cross-species transferability of SSR markers in *Foeniculum vulgare*. Plants. 2020;9(2):175. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9020175>
8. Xin Deng, SongHua Long, DongFeng He, Xiang Li, YuFu Wang, DongMei Hao, CaiSheng Qiu, Xin-Bo Chen. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from flax (*Linum usitatissimum* L.). African Journal of Biotechnology. 2011;10(5):734-739. URL: https://www.researchgate.net/publication/224826039_Isolation_and_characterization_of_polymorphic_microsatellite_markers_from_flax_Linum_usitatissimum_L
9. 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.
10. Chandrawati R., Singh N., Kumar R., Kumar S., Singh P. K., Yadav V. K., Ranade S. A., Yadav K. H. Genetic diversity, population structure and association analysis in linseed (*Linum usitatissimum* L.). Physiology and Molecular Biology of Plants. 2017;23(1):207-219. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0408-5>
11. Базанов Т. А., Ущиповский И. В., Логинова Н. Н., Смирнова Е. В., Михайлова П. Д. Формирование системы генетической паспортизации масличного льна. Аграрная наука. 2020;(7-8):80-83. DOI: <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-340-7-80-83>
12. 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>
13. 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>
14. Рябенко Л. Г., Зеленцов В. С., Овчарова Л. Р., Галкина Г. Г., Скляр С. В. Сорт масличного льна Даник. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2015;(4(164)):141-142. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25304529>
15. Рябенко Л. Г., Зеленцов В. С., Овчарова Л. Р., Галкина Г. Г., Скляр С. В. Сорт масличного льна Нилин. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2015;(4(164)):143-144. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25304530>
16. Минжасова А. К., Лошкормойников И. А. Сорт масличного льна Август. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2017;(2(170)):115-116. Режим доступа: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29712585>
17. Рябенко Л. Г., Зеленцов В. С., Овчарова Л. Р., Зеленцов В. С., Скляр С. В., Мошненко Е. В. Зимующий сорт масличного льна Снегурок. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2020;(4(184)):99-102. DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2020-4-184-99-102>
18. Peakall R., Smouse P. E. GenA1Ex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics. 2012;28(19):2537-2539. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460>
19. Чесноков Ю. В., Косолапов В. М. Генетические ресурсы растений и ускорение селекционного процесса. М.: ООО «Угрешская типография», 2016. 172 с. Режим доступа: <https://www.vniikormov.ru/pdf/geneticheskie-resursy-rastenii-i-uskorenie-selekcionnogo-protcessa.pdf>
20. 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://elibrary.ru/item.asp?id=24037018>
21. Лукомец В. М., Зеленцов В. С., Мошненко Е. В. Теоретическое обоснование возможности отбора перспективных особей в сортовых популяциях самоопылителей на примере сои. Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. 2021;(2(186)):31-40. DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2021-2-186-31-40>

References

1. 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' Vse-rossiyskogo 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>
2. Pukhal'skiy V. A. *Problemy geneticheskoy teorii seleksii rasteniy.* [Problems of the genetic theory of plant breeding]. *Vestnik VOGiS.* 2005;9(3):306-316. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=9127250>
3. Ushchapovskiy I. V., Lemesh V. A., Bogdanova M. V., Guzenko E. V. *Osobennosti seleksii i perspektivy primeneniya molekulyarno-geneticheskikh metodov v genetiko-seleksionnykh issledovaniyakh l'na (Linum usitatissimum L.).* [Particularity of breeding and perspectives on the use of molecular genetic methods in flax (*Linum usitatissimum L.*) genetics and breeding research (review)]. *Sel'skokhozyaystvennaya biologiya* = Agricultural Biology. 2016;51(5):602-616. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2016.5.602rus>
4. Varshney R. K., Bohra A., Yu J., Graner A., Zhang Q., Sorrells M. E. Designing future crops: genomics-assisted breeding comes of age. *Trends in Plant Science.* 2021;26(6):631-649. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.03.010>
5. Gasi F., Sehic J., Grahic J., Hjeltnes S. H., Ordidge M., Benedikova D., Blouin-Delmas M., Drogoudi P., Giovannini D., Höfer M., Kahu K., Kovács S., Lácis 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. Suprun I. I., Stepanov I. V., Tokmakov S. V., Eremin G. V. *Otsenka geneticheskogo polimorfizma slivy domashney na osnove analiza mikrosatelitnykh lokusov.* [Study of prunus domestica genetic diversity by analysis of microsatellite loci]. *Genetika* = Russian Journal of Genetics. 2019;55(2):165-173. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.1134/S0016675819010144>
7. Aiello D., Ferradini N., Torelli L., Volpi C., Lambalk J., Russi L., Albertini E. Evaluation of cross-species transferability of SSR markers in *Foeniculum vulgare*. *Plants.* 2020;9(2):175. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9020175>
8. Xin Deng, SongHua Long, DongFeng He, Xiang Li, YuFu Wang, DongMei Hao, CaiSheng Qiu, Xin-Bo Chen. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from flax (*Linum usitatissimum L.*). *African Journal of Biotechnology.* 2011;10(5):734-739. URL: https://www.researchgate.net/publication/224826039_Isolation_and_characterization_of_polymorphic_microsatellite_markers_from_flax_Linum_usitatissimum_L
9. 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.
10. Chandrawati R., Singh N., Kumar R., Kumar S., Singh P. K., Yadav V. K., Ranade S. A., Yadav K. H. Genetic diversity, population structure and association analysis in linseed (*Linum usitatissimum L.*). *Physiology and Molecular Biology of Plants.* 2017;23(1):207-219. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12298-016-0408-5>
11. Bazanov T. A., Ushchapovskiy I. V., Loginova N. N., Smirnova E. V., Mikhaylova P. D. *Formirovanie sistemy geneticheskoy pasportizatsii maslichnogo l'na.* [Formation of a system of genetic certification of linseed]. *Agrarnaya nauka* = Agrarian science. 2020;(7-8):80-83. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2020-340-7-80-83>
12. Chelyustnikova T. A., Guchetl S. Z., Antonova T. S. *Mikrosatelitnye lokusy dlya identifikatsii sortov l'na maslichnogo seleksii VNIIMK: podbor informativnykh praymerov i optimal'nykh usloviy PTsR DNK.* [Microsatellite loci for identification of oil flax varieties of the breeding of V. S. Pustovoit All-russian Research Institute of oil crops: selection of informative 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>
13. Guchetl S. Z., Chelyustnikova T. A. *Genotipirovanie sortov l'na maslichnogo s ispol'zovaniem sistemy mikrosatelitnykh DNK markerov.* [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>
14. Ryabenko L. G., Zelentsov V. S., Ovcharova L. R., Galkina G. G., Sklyarov S. V. *Sort maslichnogo l'na Danik.* [A variety of oil flax Danik]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur* = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2015;(4(164)):141-142. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25304529>
15. Ryabenko L. G., Zelentsov V. S., Ovcharova L. R., Galkina G. G., Sklyarov S. V. *Sort maslichnogo l'na Nilin.* [A variety of oil flax Nilin]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tehnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-*

issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2015;(4(164)):143-144. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25304530>

16. Minzhasova A. K., Loshkomoynikov I. A. *Sort maslichnogo l'na Avgust*. [The new oil flax variety Avgust]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tekhnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur* = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2017;(2(170)):115-116. (In Russ.). URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=29712585>

17. Ryabenko L. G., Zelentsov S. V., Ovcharova L. R., Zelentsov V. S., Sklyarov S. V., Moshnenko E. V. *Zimuyushchii sort maslichnogo l'na Snegurok*. [Winter variety of oil flax Snegurok]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tekhnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur* = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2020;(4(184)):99-102. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2020-4-184-99-102>

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

19. Chesnokov Yu. V., Kosolapov V. M. *Geneticheskie resursy rasteniy i uskorenie selektsionnogo protsesssa*. [Genetic resources of plants and acceleration of breeding process]. Moscow: OOO «Ugreshskaya tipografiya», 2016. 172 p. URL: <https://www.vniikormov.ru/pdf/geneticheskie-resursy-rastenii-i-uskorenie-selektcionnogo-protcesssa.pdf>

20. Rogozhina T. G., Aniskina Yu. V., Karpachev V. V., Shilov I. A. *Ispol'zovanie mikrosatelitnogo analiza dlya vyavleniya 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-tekhnicheskii 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://elibrary.ru/item.asp?id=24037018>

21. Lukomets V. M., Zelentsov S. V., Moshnenko E. V. *Teoreticheskoe obosnovanie vozmozhnosti otbora perspektivnykh osobey v sortovykh populyatsiyakh samoopyliteley na primere soi*. [Theoretical justification of the possibility to select perspective individuals in cultivar populations of self-pollinators on the example of soybean]. *Maslichnye kul'tury. Nauchno-tekhnicheskii byulleten' Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta maslichnykh kul'tur* = Oil crops. Scientific and technical Bulletin of VNIIMK. 2021;(2(186)):31-40. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2021-2-186-31-40>

Сведения об авторах

✉ **Гучетль Саида Заурбиевна**, кандидат биол. наук, зав. 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: <https://orcid.org/0000-0002-2193-5230>, 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>

Аверина 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: <https://orcid.org/0000-0003-0599-9100>

Information about the authors

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

Tatyana A. Chelyustnikova, analyst of the Laboratory of Molecular Genetic Research, V. S. Pustovoi 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>

Anastasia A. Averina, laboratory assistant researcher of the Laboratory of Molecular Genetic Research, V. S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops, 17 Filatov street, Krasnodar, Russian Federation, 350038, e-mail: vniimk@vniimk.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0599-9100>

✉ – Для контактов / Corresponding author