УДК 631.523:633.854.78

Научная статья



DOI: 10.32634/0869-8155-2024-388-11-117-121

А.В. Головатская ⊠ С.З. Гучетль

Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В.С. Пустовойта, Краснодар, Россия

□ annamoon11@gmail.com

06.07.2024 Поступила в редакцию: 02.10.2024 Одобрена после рецензирования: Принята к публикации: 17.10.2024

© Головатская А.В., Гучетль С.З.

Оценка генетического разнообразия линий подсолнечника селекции ВНИИМК на основе мультиплексного микросателлитного анализа

РЕЗЮМЕ

Создание сорта, гибрида любой культуры, в том числе и подсолнечника, предполагает большие материальные и временные затраты. В связи с этим для развития отечественных селекционных программ и увеличения эффективности селекционного процесса необходимо привлечение вспомогательных инструментов. Для этих целей наиболее эффективными и распространенными являются микросателлитные ДНК-маркеры. С использованием разработанной авторами мультиплексной системы микросателлитных ДНК маркеров удалось в короткие сроки идентифицировать и оценить генетическое разнообразие 28 линий подсолнечника селекции «Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур им. В.С. Пустовойта». Изученные в данной работе линии были созданы в разных экологических зонах возделывания. ДНК выделена из осевых органов зародыша сухой семянки с применением набора реагентов «МагноПрайм ФИТО». Образцы генотипированы с использованием 4 мультиплексных систем, состоящих из 4-5 пар праймеров. Продукты полимеразной цепной реакции разделяли методом капиллярного электрофореза в денатурирующих условиях на генетическом анализаторе Нанофор-05. Отобранные 18 пар праймеров продуцировали 130 аллелей, в среднем 7,22 аллеля на локус. Эффективное число аллелей находилось в пределах от 2,47 до 6,87. Частота всех аллелей полиморфных локусов изменялась от 0,036 до 0,571. Индекс РІС составил от 0,59 до 0,86. Все исследованные в данной работе маркеры обладали высоким дискриминационным потенциалом. Анализ коллекции показал значительное генетическое разнообразие и дистанции между линиями. Кластерный анализ отразил 100%-ную уникальность исследуемых генотипов селекции ВНИИМК. Для линий прослеживалась структурированность, заключающаяся в том, что отцовские и материнские формы гибридов распределились в разные группы по степени генетического родства.

Ключевые слова: подсолнечник, Helianthus annuus, SSR-маркеры, генетическое разнообразие, генотипирование, система мультиплексов, микросателлиты

Для цитирования: Головатская А.В., Гучетль С.З. Оценка генетического разнообразия линий подсолнечника селекции ВНИИМК на основе мультиплексного микросателлитного анализа. Аграрная наука. 2024; 388(11): 117-121.

https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-388-11-117-121

Research article



DOI: 10.32634/0869-8155-2024-388-11-117-121

Anna V. Golovatskaya 🖂 Saida Z. Guchetl

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

□ annamoon11@gmail.com

Received by the editorial office: 06.07.2024 02.10.2024 Accepted in revised: Accepted for publication: 17.10.2024

© Golovatskava A.V., Guchetl S.Z.

Assessment of the genetic diversity of sunflower lines of VNIIMK breeding based on multiplex microsatellite analysis

ABSTRACT

The development of a variety, a hybrid, involves a significant investment of time and money. In this regard, for the development of domestic breeding programmes and to increase the efficiency of the breeding process, it is necessary to attract additional tools. For these purposes, the most effective and widely used are microsatellite DNA markers. Using the multiplex system of microsatellite DNA markers developed by us, it was possible to identify and evaluate the genetic diversity of 28 sunflower lines of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops in a short time. The lines studied in this work were developed in different ecological zones of cultivation. DNA was isolated from the axial organs of the dry seed germ using the reagent kit "MagnoPrime Phyto". Samples were genotyped using 4 multiplex systems consisting of 4-5 primer pairs. Polymerase chain reaction products were separated by capillary electrophoresis under denaturing conditions on a Nanofor-05 genetic analyzer. The selected 18 primer pairs produced 130 alleles, with an average of 7.22 alleles per locus. The effective number of alleles ranged from 2.47 to 6.87. The frequency of all alleles of the polymorphic loci varied from 0.036 to 0.571. The PIC index ranged from 0.59 to 0.86. All the markers studied in this work had high discriminatory potential. The collection of lines showed significant genetic diversity and distances between them. Cluster analysis reflected 100% uniqueness of the studied genotypes bred at V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops. Structuredness of the lines was observed in the way that paternal and maternal forms of hybrids were placed in different groups according to the degree of genetic affinity.

Key words: sunflower, Helianthus annuus, SSR markers, genetic diversity, genotyping, multiplex system, microsatellite

For citation: Golovatskaya A.V., Guchetl S.Z. Assessment of the genetic diversity of sunflower lines of VNIIMK breeding based on multiplex microsatellite analysis. Agrarian science. 2024; 388(11): 117-121

https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-388-11-117-121

Введение/Introduction

Подсолнечник (Helianthus annuus L.) входит в список основных масличных культур Российской Федерации. Содержание масла в его семенах достигает 60% и составляет 90% сырья, перерабатываемого масложировой промышленностью. Подсолнечное масло отличается высокими вкусовыми качествами и используется непосредственно в пищевой промышленности. Жмых и шрот, обмолоченные корзинки, являются ценным источником корма для скота [1]. Данная сельскохозяйственная культура обеспечивает не только внутреннее потребление, но и занимает второе место по экспорту масличного сырья, уступая сое. Показатель экспорта подсолнечного масла за 2023 год составил 67,5%1.

В Федеральном научном центре «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В.С. Пустовойта (ВНИИМК)» селекция подсолнечника осуществляется уже более 100 лет. Становление подсолнечника как масличной культуры, нашедшей широкое распространение сначала в нашей стране, а затем и во многих странах мира, связано с именем выдающегося ученого-селекционера В.С. Пустовойта. Фактически под его руководством создана новая техническая культура, пригодная для промышленного производства.

Селекционерами ВНИИМК созданы сорта и гибриды подсолнечника разных групп спелости с высокой продуктивностью, обладающие устойчивостью к биотическим и абиотическим стрессорам. Успешно ведется работа по селекции данной культуры на крупноплодность, устойчивость к гербицидам, изменение жирнокислотного состава масла семян [2].

Ряд сортов, созданных селекционерами (ВНИИМК 1646, ВНИИМК 6540, Армавирский 3497, ВНИИМК 8883, Передовик, Смена, ВНИИМК 8931, Первенец и др.), распространились по всему миру, включая свою историческую родину — Северную Америку, и служат источниками таких важных хозяйственно ценных признаков, как высокая масличность, высокая продуктивность, низкая лузжистость, высокое содержание олеиновой кислоты в масле семян, устойчивость к патогенам [3].

ВНИИМК ведет селекционные программы подсолнечника, адаптированного к выращиванию в разных регионах, на трех основных опытных станциях: Центральная экспериментальная база (ЦЭБ) ВНИИМК, г. Краснодар, Россия; Армавирская опытная станция (АОС) ВНИИМК, г. Армавир, Краснодарский край, Россия; Донская опытная станция (ДОС) ВНИИМК, пос. Опорный, Ростовская обл., Россия.

Накоплен значительный исходный селекционный материал подсолнечника, куда вошли, кроме сортов, коммерческие линии и гибриды, образцы, являющиеся донорами хозяйственно ценных признаков.

За 2022 год доля высеянных семян подсолнечника отечественной селекции составила всего 22%2. Существует потребность увеличения темпов импортозамещения и обеспечения продовольственной безопасности России. Создание качественных, высокопродуктивных сортов и гибридов предполагает большие материальные затраты и длительность процесса. В связи с этим для развития отечественных селекционных программ и увеличения эффективности селекционного процесса необходимо привлечение современных технологий генотипирования, обеспечивающих

изучение генетического разнообразия и идентификацию селекционного материала. Для этих целей наиболее эффективным и распространенным инструментом являются микросателлитные ДНК-маркеры (SSR, Simple Sequence Repeats) — простые тандемные повторы фрагментов ДНК [4].

На протяжении нескольких десятков лет в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр "Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В.С. Пустовойта"» изучалось молекулярно-генетическое разнообразие генотипов подсолнечника отечественной и иностранной селекции. Основным методом исследования являлась идентификация генотипов с помощью микросателлитных локусов ДНК. Однако генотипирование 54 линий подсолнечника коллекции ВНИИМК с помощью 12 SSR маркеров выявило лишь их умеренное генетическое разнообразие [4], хотя охарактеризованные при помощи других типов маркеров 186 линий селекции ВНИИМК показали значительную гетерогенность [5].

Использованные SSR-маркеры не позволили оценить всё генетическое разнообразие изучаемой коллекции линий, поскольку не все из них обладали достаточной информативностью. Следует иметь в виду, что значительно ускоряет и удешевляет процесс генотипирования растений мультиплексный анализ микросателлитных локусов, при котором разные SSR-праймеры помещаются в одну и ту же реакционную смесь [6]. Для разработки эффективной системы идентификации подсолнечника был осуществлен поиск более информативных микросателлитных маркеров из опубликованных литературных источников. Приемлемыми для генотипирования подсолнечника оказались только три локуса (ORS78, ORS815, ORS243) с тринуклеотидными повторами мотивов [7].

В связи с этим необходимо было подобрать систему микросателлитных маркеров, способную выявить всё разнообразие коллекции селекционных линий ВНИИМК.

Цели исследования — генотипирование и оценка генетического разнообразия линий подсолнечника селекции ВНИИМК на основе мультиплексных систем новых микросателлитных локусов ДНК.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

Данная работа проводилась в 2023 году в лаборатории молекулярно-генетических исследований Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур им. В.С. Пустовойта.

В качестве материала для исследований использовали 28 линий селекции ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК. Генотипы представлены 13 материнскими и 15 отцовскими формами, стерильными линиями (А формы) и закрепителями стерильности (Б формы) (табл. 1).

ДНК выделяли из осевых органов зародыша сухой семянки подсолнечника с помощью набора реагентов «МагноПрайм ФИТО» («НекстБио», Россия) с применением автоматической станции для экстракции и очистки нуклеиновых кислот Auto-pure 96 (Allsheng, KHP).

Качественная и количественная оценка экстрагированной ДНК осуществлялась методом спектрофотометрии на спектрофотометре Nano-300 (Allsheng, KHP).

¹ United States Department of Agriculture. Oilseeds and Products Annual. Nicaragua. 2023.

² Семена государственной важности. К 2030 году Россия должна закрыть отечественной продукцией 75% от потребности для сева. Агроинвестор. Режим доступа: https://www.agroinvestor.ru/markets/article/38226-semena-gosudarstvennoyvazhnosti-k-2030-godu-rossiya-dolzhna-zakrytotechestvennoy-produktsiey-75- ot/ (дата обращения: 27.12.2022).

Для проведения реакции амплификации использовались 25 мкл реакционной смеси следующего состава: 67 мМ трис-HCl, pH 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; 20 нг матричной ДНК и 1 ед. рекомбинантной термостабильной ДНК полимеразы (НПО «Сибэнзим», Россия).

Амплификацию выполняли в термоциклере MiniAmp Plus (Thermo Scientific, США) при следующих температурно-временных режимах: начальная денатурация при 96 °C в течение 2 мин., затем 30–35 циклов: денатурация при 94 °C — 30 сек., отжиг при 60 °C — 40 сек., элонгация при 70 °C — 1 мин., финальная элонгация при 70 °C — 2 мин.

Для анализа использовали 16 маркеров микросателлитных локусов (МН1, МН2, МН3, МН4, МН5, МН6, МН7, МН8, МН9, МН10, МН11, МН12, МН13, МН14, МН15, МН16), разработанных авторами исследования, и 2 маркера, отобранных из источников литературы ORS78, ORS815 [8].

Разделение продуктов амплификации, полученных с использованием пары праймеров, один из которых флуоресцентно меченый (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 СД-600 меченым флуоресцентным красителем (Dy-632) с помощью GeneMarker software version 3.0.1. (State College, PA).

Анализ информативности микросателлитных локусов включал определение количества аллелей (Na), эффективного числа аллелей (Ne) и индекса полиморфного информационного содержания (PIC). Вычисления проводили с помощью компьютерного программного обеспечения GenAlEx 6.5 (Peakall and Smouse, Australia) [9].

Определение генетических взаимоотношений между линиями в изучаемой коллекции основывалось на функции стандартного программного пакета Stats для языка программирования R версии 4.3.2 (R Core Team, 2023) по методу ward.D2 [10].

Результаты и обсуждение / Results and discussion

Согласно результатам прошлых исследований, выявлены два микросателлитных локуса (ORS78, ORS815), подходящих для генотипирования подсолнечника селекции ВНИИМК [7].

Маркеры микросателлитных локусов показали высокий дискриминационный потенциал, кодоминантное наследование и специфичность к целевому локусу. На основе отобранных из литературных источников и новых разработанных авторами микросателлитных маркеров были созданы 4 системы для мультиплексной ПЦР, состоящие из 4–5 пар праймеров.

Характеристики использованных в данной работе микросателлитных локусов представлены в таблице 2.

У изученных линий были обнаружены 130 аллелей, в среднем 7,22 аллеля на локус. Эффективное число аллелей находилось в пределах от 2,47 до 6,87 при среднем значении 4,45.

По результатам фрагментного анализа 28 линий были определены размеры ампликонов по каждому микросателлитному локусу. Размер аллелей находился в диапазоне от 153 до 536 п. н. Индекс РІС составил от 0,59 до 0,86, в среднем 0,75.

Таблица 1. Характеристика родительских форм гибридов, включенных в исследование

Table 1. Characteristics of the parental lines of hybrids included in the study

in the study		
Происхождение	Материнские формы	Отцовские формы
ДОС ВНИИМК	ЭД127	ВД541
	эд33	ЭД155
	ЭД399	ЭД193В
	ЭД65А	ЭД110
	ЭД73	
	ЭД45	
	ЭД47	
АОС ВНИИМК	BA760A	BA384
		BA389
		BA737
		BA337
		BA568
		BA820
	BK678	BK195
	ВК1 клп	ВК21 клп
ЦЭБ ВНИИМК	BK680	BK580
	BK1 cyp	BK301
	ВК101Б	BK21 cyp

Таблица 2. Характеристика микросателлитных локусов ДНК Table 2. Characteristics of DNA microsatellite loci

Название праймера	Мотив	Хромосомная локализация	Количество аллелей			
Мультиплексная система № 1						
MH5	(TAA)21 12		5			
ORS78	(AAG)10	10	3			
MH6	(ATT)23	12	4			
ORS815	(CTT)8	10	3			
MH9	(TAA)12	15	4			
Мультиплексная система № 2						
MH7	(TAT)18	16	4			
MH10	(TCT)10	1	3			
MH4	(AAT)23(TAT)18	17	4			
MH11	(TGT)10 (GTT)6 2		3			
Мультиплексная система № 3						
MH15	(AAT)17	3	4			
MH2	(TTA)26	15	4			
MH8	(TAA)10	1	4			
мн3	(TAT)18 16		4			
Мультиплексная система № 4						
MH12	(ATA)21	2	5			
MH13	(AAT)19	3	5			
MH14	(ATA)23	2	4			
MH1	(ATT)33	10	3			
MH16	(TAA)10TT(TAA)5	1	6			

Наиболее полиморфными были маркеры МН6 и МН12. Их индекс PIC составил 0,85 и 0,86 соответственно. Наименее полиморфными оказались ORS78, ORS815 (PIC 0,60 и 0,59 соответственно).

Значения показателей информативности каждого микросателлитного локуса продемонстрированы в таблице 3.

Таблица 3. Показатели информативности SSR-локусов у линий подсолнечника селекции ВНИИМК

Table 3. Information content of SSR loci in sunflower lines bred by VNIIMK

•				
Локус	PIC	N _a	N _e	Диапазон длин амплифицированных фрагментов ДНК
MH1	0,80	8,00	4,88	389-472
MH2	0,81	7,00	5,37	180-198
MH3	0,79	9,00	4,70	261-291
MH4	0,66	7,00	2,95	273-312
MH5	0,79	7,00	4,67	293-318
мн6	0,85	8,00	6,57	231-292
MH7	0,75	7,00	4,07	325-432
ORS78	0,60	4,00	2,51	153-163
ORS815	0,59	4,00	2,47	170-191
MH8	0,70	5,00	3,35	163-195
MH9	0,68	6,00	3,11	274-283
MH10	0,67	4,00	3,04	250-279
MH11	0,80	6,00	4,97	438-453
MH12	0,86	12,00	6,87	217-264
MH13	0,79	9,00	4,72	263-291
MH14	0,82	9,00	5,44	304-340
MH15	0,74	6,00	3,84	279-302
MH16	0,85	12,00	6,50	435-536
Среднее	0,75	7,22	4,45	-

Примечания: Na — число аллелей на локус. Ne — эффективное число аллелей, РІС — индекс полиморфного информационного содержания

Пригодность маркера для генотипирования и оценки генетического разнообразия зависит от числа аллелей, которыми обладает этот маркер, и их относительных частот встречаемости. Маркер считается полиморфным, если представлен как минимум двумя аллелями [4].

В целом все изученные в данной работе маркеры обладали высоким лискриминационным потенциалом (значение РІС выше 0,5) и являлись результативными

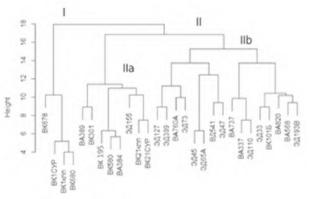
Рис. 1. Частота встречаемости аллелей по 18 изученным локусам Fig. 1. Frequency of occurrence of alleles for 18 studied loci



Примечание: 1-MH5, 2-ORS78, 3-MH6, 4-ORS815, 5-MH9, 6-MH7, 7-MH10, 8-MH4, 9-MH11, 10-MH15, 11-MH2, 12-MH8, 13-MH3, 14-MH12, 15-MH16, 16-MH13, 17-MH1, 18-MH14.

Рис. 2. Дендрограмма генетических взаимоотношений между 28 линиями полсолнечника селекции ВНИИМК

Fig. 2. Dendrogram of genetic relationships between 28 lines of sunflower bred by VNIIMK



для изучения генетического разнообразия и определения генетических дистанций между линиями.

В коллекции линий частота всех аллелей полиморфных локусов изменялась от 0,036 до 0,571. У 11 линий были выявлены уникальные аллели, встречающиеся только в одном генотипе.

По локусам МН12 и МН16 определено наибольшее количество уникальных аллелей (8 и 7 соответственно), частота встречаемости аллелей по данным локусам равна 0,036 (рис. 1).

Для определения генетических взаимоотношений между линиями был выполнен кластерный анализ с построением дендрограммы методом Ward. Генетические дистанции между линиями составили от 4 до 18 единиц (рис. 2). Это говорит том, что они имеют уникальные генотипы. Отличимость составила 100%.

По результатам анализа дендрограммы изученные линии были разделены на два основных кластера (I и II) на максимальном для данных генотипов уровне объединения.

Первый кластер характеризовался небольшим размером, включал только 4 материнские (ЦМС) линии ЦЭБ ВНИИМК. В этот кластер в том числе вошли образцы ВК-1сур, ВК-1клп и ВК680, которые имеют общее происхождение и являются аналогами по отношению друг к другу.

Следует отметить, что ранее, при паспортизации этих линий с помощью другого набора микросателлитных маркеров, авторы не смогли отличить ВК-1сур и ВК-1клп друг от друга.

Второй кластер был значительно разнообразнее по составу и объединил все остальные линии изучаемых коллекций на уровне объединения 16,8 единицы. Однако он был подразделен на два субкластера — ІІа и IIb. В субкластер IIa вошли восемь линий, в основном из коллекции линий ЦЭБ ВНИИМК (за исключением ВАЗ89 и ЭД155 из коллекций АОС и ДОС ВНИИМК соответственно).

Все образцы этого субкластера представляли собой отцовские (Rf) формы гибридов. Второй субкластер (IIb) был более полиморфен как по происхождению линий, так и по отношению их принадлежности к ЦМС и Rf формам. В него вошли 16 линий, в основном происходящих из АОС и ДОС ВНИИМК.

Исключение составила линия ВК101Б из коллекции ЦЭБ ВНИИМК. Девять линий представляли собой материнские формы гибридов, а семь — отцовские.

В этом субкластере наблюдалось распределение в локальные группы по принципу принадлежности к ЦМС или Rf форме больше, чем к происхождению из коллекции.

Таким образом, для линий ВНИИМК прослеживается некоторая структурированность, которая заключается в том, что отцовские и материнские формы гибридов распределяются в разные группы по генетическому родству. Такой тип генетического родства был отмечен авторами и в предыдущих исследованиях [4].

Многие авторы отмечают вероятное происхождение ЦМС и Rf линий подсолнечника из разных генетических пулов [11, 12]. Однако, несмотря на такую группировку, изученные линии показали значительное генетическое разнообразие и дистанции между собой.

Полученные данные применимы при разработке технологии генотипирования и паспортизации генотипов подсолнечника при анализе генетического разнообразия и идентификации селекционного материала для подбора родительских форм с целью создания гибридов.

Выводы/Conclusion

По результатам исследования с применением разработанных авторами мультиплексных систем микросателлитных ДНК-маркеров удалось в короткие сроки идентифицировать и оценить генетическое разнообразие 28 линий подсолнечника селекции ВНИИМК.

Все использованные в данной работе маркеры обладали высоким дискриминационным потенциалом (значение PIC выше 0,5) и оказались результативными для изучения генетического разнообразия, определения генетических дистанций между линиями.

Все авторы несут ответственность за работу и представленные данные. Все авторы внесли равный вклад в работу. Авторы в равной степени принимали участие в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат.

Авторы объявили об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- 1. Dimitrijevic A., Horn R. Sunflower Hybrid Breeding: From Markers to Genomic Selection. *Frontiers in Plant Science*. 2018; 8: 2238. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02238
- 2. Лукомец В.М., Бочкарев Н.И., Трунова М.В. ВНИИМК 110 лет на страже масличной отрасли России. *Масличные культуры*. 2022; (1): 97–102.

https://doi.org/10.25230/2412-608X-2022-1-189-97-102

- 3. Лукомец В.М., Бочкарев Н.И. К 100-летию Государственного научного учреждения Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур им. В.С. Пустовойта Российской академии сельскохозяйственных наук. *Масличные культуры*. 2012; (1): 3–8. https://www.elibrary.ru/pbmqmn
- 4. 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. https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.2.173-186
- 5. Goryunova S.V. et al. 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. https://doi.org/10.1515/helia-2018-0021
- 6. Guo L. *et al.* Multiplex SSR: A pipeline for developing multiplex SSR-PCR assays from resequencing data. *Ecology and Evolution*. 2020; 10(6): 3055–3067.

https://doi.org/10.1002/ece3.6121

- 7. Головатская А.В., Гучетль С.З. Скрининг микросателлитных ДНК маркеров для разработки эффективной системы идентификации подсолнечника. *Кормопроизводство*. 2023; (S11): 48–51. https://doi.org/10.25685/KRM.2023.11.2023.007
- 8. Duca M., Port A., Cucereavîi A., Şestacova T. SSR Markers Assessment in Estimation of Genetic Polymorphism in Sunflower. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. 2015; 2(1): 70–77.
- 9. 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.

https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460

- 10. Murtagh F., Legendre P. Ward's Hierarchical Agglomerative Clustering Method: Which Algorithms Implement Ward's Criterion? *Journal of Classification*. 2014; 31(3): 274–295. https://doi.org/10.1007/s00357-014-9161-z
- 11. Ramya K.T., Vishnuvardhan Reddy A., Sujatha M. Agromorphological and molecular analysis discloses wide genetic variability in sunflower breeding lines from USDA, USA. The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding. 2019; 79(2): 444-452.
- 12. Taheri S. *et al.* Mining and Development of Novel SSR Markers Using Next Generation Sequencing (NGS) Data in Plants. *Molecules*. 2018; 23(2): 399. https://doi.org/10.3390/molecules23020399

ОБ АВТОРАХ

Анна Владимировна Головатская

младший научный сотрудник annamoon11@gmail.com https://orcid.org/0000-0001-8355-3150

Саида Заурбиевна Гучетль

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией saida.guchetl@mail.ru

https://orcid.org/0000-0002-2193-5230

Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур им. В.С. Пустовойта,

ул. им. Филатова, 17, Краснодар, 350038, Россия

У 11 линий были выявлены уникальные аллели. Наибольшее их количество наблюдалось по локусам МН12 и МН16 (8 и 6 соответственно). В изученной коллекции частота аллелей полиморфных локусов изменялась от 0,036 до 0,571. Коллекция линий показала значительные генетическое разнообразие и дистанции между ними. Кластерный анализ отразил 100%-ную уникальность исследуемых генотипов селекции ВНИИМК.

Для коллекции линий прослеживается структурированность, заключающаяся в том, что отцовские и материнские формы гибридов распределились в разные группы генетического родства.

All authors bear responsibility for the work and presented data.
All authors made an equal contribution to the work.
The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism.

The authors declare no conflict of interest.

REFERENCES

- 1. Dimitrijevic A., Horn R. Sunflower Hybrid Breeding: From Markers to Genomic Selection. *Frontiers in Plant Science*. 2018; 8: 2238. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02238
- 2. Lukomets V.M., Bochkaryov N.I., Trunova M.V. VNIIMK has been guarding the oilseed industry of Russia for 110 years. *Oil Crops.* 2022; (1): 97–102 (in Russian)

https://doi.org/10.25230/2412-608X-2022-1-189-97-102

- 3. Lukomets V.M., Bochkaryov N.I. To the 100th anniversary of the State Scientific Institution of the All-Russian Scientific Research Institute of Oilseeds named after V.S. Pustovoit of the Russian Academy of Agricultural Sciences. *Oil Crops.* 2012; (1): 3–8 (in Russian). https://www.elibrary.ru/pbmqmn
- 4. 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. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2023; 24(2): 173–186 (in Russian).

https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.2.173-186

- 5. Goryunova S.V. et al. 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.
- https://doi.org/10.1515/helia-2018-0021
- 6. Guo L. *et al.* Multiplex SSR: A pipeline for developing multiplex SSR-PCR assays from resequencing data. *Ecology and Evolution*. 2020; 10(6): 3055–3067.

https://doi.org/10.1002/ece3.6121

- 7. Golovatskaya A.V., Guchetl S.Z. Screening of microsatellite DNA markers for effective sunflower identification. *Fodder Production*. 2023; (S11): 48–51 (in Russian). https://doi.org/10.25685/KRM.2023.11.2023.007
- 8. Duca M., Port A., Cucereavîi A., Şestacova T. SSR Markers Assessment in Estimation of Genetic Polymorphism in Sunflower. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences*. 2015; 2(1): 70–77.
- 9. 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.

https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460

- 10. Murtagh F., Legendre P. Ward's Hierarchical Agglomerative Clustering Method: Which Algorithms Implement Ward's Criterion? *Journal of Classification*. 2014; 31(3): 274–295. https://doi.org/10.1007/s00357-014-9161-z
- 11. Ramya K.T., Vishnuvardhan Reddy A., Sujatha M. Agromorphological and molecular analysis discloses wide genetic variability in sunflower breeding lines from USDA, USA. The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding. 2019; 79(2): 444-452.
- 12. Taheri S. et al. Mining and Development of Novel SSR Markers Using Next Generation Sequencing (NGS) Data in Plants. *Molecules*. 2018; 23(2): 399. https://doi.org/10.3390/molecules23020399

ABOUT THE AUTHORS

Anna Vladimirovna Golovatskaya

Junior Research Assistant annamoon11@gmail.com https://orcid.org/0000-0001-8355-3150

Saida Zaurbievna Guchetl

Candidate of Biological Sciences, Head of the Laboratory saida.guchetl@mail.ru https://orcid.org/0000-0002-2193-5230

V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, 17 Filatov Str., Krasnodar, 350038, Russia