

СЕЛЕКЦИЯ, СЕМЕНОВОДСТВО И АГРОНОМИЯ ТЕХНИЧЕСКИХ И СЕВООБОРОТНЫХ КУЛЬТУР

DOI 10.54016/SVITOK.2023.27.37.001
УДК 633.521:631.527

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ SSR-МАРКЕРОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОДНОРОДНОСТИ СОРТОВ ТЕХНИЧЕСКИХ И МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР

© 2023. Т. А. Базанов, И. В. Ущановский,
Н. Н. Логинова, Е. В. Смирнова, П. Д. Михайлова
ФГБНУ «Федеральный научный центр лубяных культур»,
г. Тверь, Российская Федерация

*Вопросы чистоты сортов, линий и гибридов сельскохозяйственных растений всегда стояли одними из первых в области интересов как практической селекции, так и производственного использования сортов. С момента внедрения на мировой сельскохозяйственный рынок товарных семян селекционных сортов эта проблема приобрела не только научную, но и коммерческую значимость. Молекулярно-генетические маркеры играют важную роль в ведении селекционной работы в рамках маркер-ассоциированной селекции. В данной работе рассматривается возможность применения молекулярно-генетических маркеров в роли инструмента для быстрой оценки генетической чистоты сортового материала. В работе использовано 84 сорта льна (*Linum usitatissimum* L.), 17 сортов рыжика посевного (*Camelina sativa* L.) и 8 сортов конопли посевной (*Cannabis sativa* L.), включенных в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации. Образцы подвергались SSR-анализу методом ПЦР с помощью трех наборов SSR-праймеров. Типичные образцы с одинаковыми данными принимались как однородные представители сорта. Полученные результаты подтвердили, что генетическая чистота сортового материала самоопыляемых сельскохозяйственных культур находится в зависимости от времени создания и, вероятно, от уровня факультативности опыления. Оценка генетической чистоты перекрестноопыляемых культур с помощью молекулярно-генетических маркеров затруднена и требует поиска маркеров с меньшим уровнем полиморфизма. По результатам проведенной работы можно сделать вывод о достаточно высокой эффективности применения SSR-маркеров для контроля сортовой чистоты самоопыляемых технических и масличных сельскохозяйственных культур и необходимости развития применения данной методики.*

Ключевые слова: технические культуры, молекулярные маркеры, SSR-маркеры, ПЦР, генетическая чистота, селекция.

Благодарности: исследования выполнены в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования ФГБНУ ФНЦ ЛК по теме № FGSS-2019-0023.

Для цитирования: Базанов Т.А., Ущановский И.В., Логинова Н.Н., Смирнова Е.В., Михайлова П.Д. Использование SSR-маркеров для определения генетической однородности сортов технических и масличных культур. Технические культуры. Научный сельскохозяйственный журнал. 2023; 4(3):(3-16). DOI: 10.54016/SVITOK.2023.27.37.001.

Поступила: 17.10.2023 Принята к публикации: 07.12.2023 Опубликовано: 27.12.2023

THE USE OF SSR-MARKERS TO DETERMINE THE GENETIC HOMOGENEITY OF INDUSTRIAL AND OIL CROP SPECIES

© 2023. T. A. Bazanov, I. V. Ushapovsky,
N. N. Loginova, E. V. Smirnova, P. D. Mikhaylova
Federal Research Center for Bast Fiber Crops
Tver, Russian Federation

*The issues of purity of varieties, lines and hybrids of agricultural plants have always been among the first in the field of interest both in practical selection and in the production use of varieties. Since the introduction of commercial seeds of selection varieties to the world agricultural market, this problem has acquired not only scientific, but also commercial significance. Molecular genetic markers play an important role in selection work within the framework of marker-associated selection. In this paper, we consider the possibility of using molecular genetic markers as a tool for rapid assessment of the genetic purity of varietal material. We used 84 cultivars of flax (*Linum usitatissimum* L.), 17 cultivars of camelina (*Camelina sativa* L.), and 8 cultivars of hemp (*Cannabis sativa* L.) included in the State Register of Breeding Achievements of the Russian Federation. The samples were subjected to SSR-analysis by PCR using three sets of SSR-primers. Typical samples with the same data were accepted as homogeneous representatives of the variety. The obtained results confirmed that the genetic purity of the varietal material of self-pollinated agricultural crops depends on the time of creation and, probably, on the proportion of cross-pollination. The assessment of the genetic purity of cross-pollinated crops using molecular genetic markers is difficult and requires the search for markers with a lower level of polymorphism. Based on the results of the work carried out, it can be concluded that the effectiveness of the use of SSR-markers to control the varietal purity of self-pollinated industrial crops and the need to develop the application of this technique can be concluded.*

Keywords: industrial culture, molecular markers, SSR-markers, PCR, genetic purity, selection.

Acknowledgements: the research was carried out within the framework of the State Task of the Ministry of Science and Higher Education of the Federal Research Center for Bast Fiber Crops on the topic No. FGSS-2019-0023.

For citation: Bazanov T.A., Ushapovsky I.V., Loginova N.N., Smirnova E.V., Mikhaylova P.D. The use of SSR-markers to determine the genetic homogeneity of industrial and oil crop species. Technical crops. Scientific Agricultural journal. 2023; 4(3):(3-16). DOI: 10.54016/SVITOK.2023.27.37.001

Received: 17.10.2023 Accepted for publication: 07.12.2023 Published: 27.12.2023

Введение. В настоящее время развитие растениеводства в значительной степени зависит от биопотенциала используемых сортов, который осуществляется с учетом сортовой принадлежности и генетической чистоты [4]. Сохранение и проверка генетической однородности сортов на этапах селекции, семеноводства и производства технических культур является одним из важнейших компонентов современной и эффективной системы сельскохозяйственного производства [6, 8].

Генетическая чистота сорта определяет степень соответствия представленного образца заявленному сорту. Достичь абсолютной сортовой чистоты во время производства, несмотря на выполнение всех необходимых рекомендаций, довольно сложно.

Зачастую причинами генетического загрязнения становятся мутации, переопыление, механические примеси. Помимо этого, большое влияние оказывают возможные технологические нарушения в процессах уборки, транспортировки, хранения, сушки, в результате чего происходят сортовые загрязнения и/или перемешивания партий семян разных сортов [1, 9]. Комплекс данных причин приводит к тому, что с каждым последующим поколением генетическая чистота сорта снижается [6].

Классические методы определения сортовой принадлежности технических культур, основанные на морфологических (грунтконтроль) и биохимических признаках, существенно уступают современным методам генетического маркирования, дающим более

точные, воспроизводимые и быстрые результаты [4]. Широкое применение нашли методы, основанные на ДНК-маркерном анализе. Один из наиболее информативных типов ДНК-маркеров – маркеры, основанные на полиморфизме микросателлитных последовательностей генома (SSR-simple sequence repeat). Это простые последовательности, которые могут состоять из 4, 3, 2 и даже одного нуклеотида. Источник их полиморфизма – сайт-специфическое варьирование длины повтора, что, в свою очередь, обусловлено различием в числе единиц повтора. Такие маркеры получили широкое распространение благодаря их присутствию во всем геноме, воспроизводимости, многоаллельной природе, доминантному наследованию и применяются для установления сортовой идентификации и определения генетической чистоты сорта [9].

Метод SSR-маркирования успешно применяется для анализа генетической чистоты технических культур, в том числе льна, рыжика посевного и конопли посевной.

Традиционно лён обыкновенный (*Linum usitatissimum* L.) относится к автогамным растениям (самоопылитель), но в то же время, ряд авторов указывает на незначительное перекрестное опыление (до 1%, в единичных случаях до 5%) ветром и насекомыми [12]. На основании этого некоторые авторы ста-

ли относить данную культуру к факультативным самоопылителям [2].

Рыжик посевной (*Camelina sativa* L.) – самоопыляющееся растение, при этом доля перекрестного опыления составляет от 10 до 25% [3, 5, 10].

Конопля посевная (*Cannabis sativa* L.) – однолетнее перекрестноопыляемое растение, при этом опыление происходит главным образом при помощи ветра [7, 13].

Целью работы являлось изучение генетической однородности сортов льна, рыжика посевного и конопли посевной с помощью SSR-маркеров.

Методика исследований. Исследования проводились в лаборатории молекулярно-генетических исследований и клеточной селекции ФГБНУ ФНЦ ЛК г. Тверь в период 2020–2022 гг. В качестве объекта исследований было использовано 84 сорта льна (24 – льна масличного и 60 – льна-долгунца), 17 сортов рыжика посевного (7 – озимого и 10 – ярового) и 8 сортов конопли посевной различного временного и географического происхождения, включенных в Государственный реестр селекционных достижений Российской Федерации. Образцы для исследования были взяты из коллекции ФГБНУ ФНЦ ЛК. Исследованные сорта льна представлены в таблице 1, рыжика посевного – в таблице 2, конопли посевной – в таблице 3, соответственно.

Таблица 1 – Исследованные сорта льна-долгунца и льна масличного

Сорт		Оригинатор
Сорта льна-долгунца		
Агата	Мелина	Limagrain Nederland BV, г. Лейстад, Нидерланды
Мерилин		Van de Bilt Zaden BV, г. Служискил, Нидерланды
Василек, Веста	Ласка, Левит 1	Институт льна, г. Орша, НАН Беларуси
Грант, Илим	Пралеска	
А-29, А-93, Уральский	Новоторжский	
Александрит	Полет, Росинка	
Алексим, Альфа	Славный 82, Тонус	
Визит, Дипломат	Тверской, Тверца	
Зарянка, Лазурный	Торжокский 4	
Ленок, Надежда	Универсал, Цезарь	
Могилевский 2	Сурский, ЛМ 98	

Сорт		Оригинатор
Антей, Восход	Прибой, Русич	ОП Псковский НИИСХ, г. Псков
Добрыня, Кром	Псковский 359	
Норд, Орион, Пересвет	Псковский 85	
Импульс	Смоленский	ОП Смоленский НИИСХ, г. Смоленск
Лидер, С-108	Смолич, Союз	
Белочка	Синичка	ВСХА, г. Киров
Памяти Крепкова	Тост, Тост 3	СФНЦА РАН, г. Томск
Томич, Томский 16	Тост 4, Тост 5	
Томский 17	Томский 18	
Сорта масличного льна		
Август, Бирюза	Радуга, Ручеек, РФН	ФНЦ ВНИИМК, г. Краснодар
ВНИИМК 620	Светлячок, Северный	
ВНИИМК 620 ФН	Сокол, Флиз, Нилин	
ВНИИМК 630, Ы 117	Даник, Небесный	
Исилькульский		
Исток		ОП Пензенский НИИСХ, г. Пенза
Кинельский 2000		СФИЦ РАН, г. Кинель
Чибис		Баранник В.А., г. Белгород
Рациол		AGRITEC, г. Шумперк, Чешская Республика

Таблица 2 – Исследованные сорта рыжика посевного

№	Сорт	Оригинатор
Озимый рыжик		
1	Пензяк	ОП Пензенский НИИСХ, г. Пенза
2	Козырь	
3	Барон	
4	Адонис	ФГБНУ Федеральный научный центр лубяных культур
5	Передовик	ФГБНУ «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы», г. Саратов
6	Адамас	
7	Карат	ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта», г. Краснодар
Яровой рыжик		
1	Юбиляр	ОП Пензенский НИИСХ, г. Пенза
2	Велес	
3	Ужурский	ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН, Новосибирская обл.
4	Исилькулец	ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта», г. Краснодар
5	Омич	
6	ВНИИМК-520	
7	Кристалл	

№	Сорт	Оригинатор
8	Екатерининский	Екатерининская опытная станция-филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова», Тамбовская обл.
9	Дебют	ФГБНУ «Российский научно-исследовательский и проектно-технологический институт сорго и кукурузы», г. Саратов
10	Вилла	Camelina Company Espana S.L., Madrid-Spain

Таблица 3 – Исследованные сорта конопли посевной

№	Сорт	Оригинатор
1	Сурская	ФГБНУ Федеральный научный центр лубяных культур, ООО «КОНОПЛЕКС»
2	Вера	
3	Надежда	
4	Милена	ООО «КОНОПЛЕКС»
5	Диана	ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», ФГБНУ Федеральный научный центр лубяных культур, ООО «Мордовские пенькозаводы»
6	Ингрета	ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», ФГБНУ Федеральный научный центр лубяных культур
7	Юлиана	ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», ИП Глава КФХ Пономаренко Александр Иванович
8	Гентус	

В качестве методической базы исследования использовали современные разработки зарубежных и отечественных исследователей, а также собственные методические подходы. Каждый сортообразец на начальном этапе исследования был представлен десятью индивидуальными семенами, отобранными по принципу единообразия морфологических данных семян для каждого сорта.

ДНК выделяли из листьев (50 – 100 мг) четырехнедельных растений с использованием СТАВ-метода, модифицированного для выделения ДНК из технических культур.

Каждый исследуемый сорт был представлен индивидуальными пробами ДНК десяти растений каждого сорта.

Измельчение образцов проводилось на гомогенизаторе Minilys с использованием металлических шариков. Для выделения ДНК использовали следующее оборудование: мини-центрифуга-вортекс MicroSpinFV-2400, термостат с функцией охлаждения и нагрева СН-100, микроцентрифуга MiniSpinplus. Концентрацию ДНК и оценку его чистоты проводили на спектрофотометре NanoPhotometer NP80.

Таблица 4 – Нуклеотидные последовательности SSR-маркеров льна

№	SSR-маркер	Прямой праймер (5'-3')	Обратный праймер (5'-3')
1	Lin1	TTGGGATTGAGAAGAGGG	ATAAGGCCAAATAGAGAGGAA
2	Lin2	AGGATTACAACAAGAGAC	ATATTGACAGGGGAGGAAATA
3	Lin3	TTTGCAACGTCAATACCG	ATATCGCCTCAATAAACAACA
4	Lin4	CCTCAGTAGCATCGGTG	ATATTGGCCTATAAAAAGACA
5	Lin5	GAAGAAGAAGGCGGGTAC	ATACACAGCTGAAAGCAAGAT
6	Lin6	GGGAGAACAACAAGAGAG	ATACGACAGGAACAACACG
7	Lin7	GCCGCCAGAAGAAATG	ATACTGGCAGCTTAATCAACC
8	Lin8	TCTGGGTACAACCAGAAA	ATAGACTTAGAGACGATTGG
9	Lin9	CGTCTACAACCTGGAGACA	ATAGGCGACAAGGGAGG
10	Lin10	CAACGGAGACCAAATCAG	ATACCCAGTCTACTCAGCTAG
11	Lin11	TAGTAATAAGAAGGAGCC	ATAGCATCCAACAAGGGTG

**Таблица 5 – Нуклеотидные последовательности SSR-праймеров
рыжика посевного**

№	SSR-маркер	Прямой праймер (5'-3' последовательность)	Обратный праймер (5'-3' последовательность)
1	P4E6	CACATCCAAAAGCTCTCTTTCTCTT	GACAGCGATGGTTTTAAGAAAGTTGA
2	P6E4	CCGTGGAGGAAGATGATTGAGA	TGCCCAAATCCAAGTTCG
3	LIB19	AACCGTGAACCTACTACAGAGAAAGA	TCTGGGATTTACCGAACCAA
4	P4C11	TGAGCCTTTATAGAAGTTTCGGAACAA	TGCTGATGTCACACGGAGGA
5	P3C3	TTGGCCATTGCTTGGGTGTA	ACTGGATTCCGTGCCTTGGT
6	P4C7	GCCGTCTCCAAAGGCAGAAG	GCAGCTCTCATCCTTGGTTTTG
7	P4B3	ATGGACGACGAGAGGTGTGA	CGATCTGAGCAGGCTCCATT
8	P4C2	CGTCTCCCGTTGTTCCAAGT	TCACAAATCACCAATTCCCAAG

**Таблица 6 – Нуклеотидные последовательности SSR-маркеров
конопли посевной**

№	SSR-маркер	Прямой праймер (5'-3')	Обратный праймер (5'-3')
1	CAN0110	GGGTAAAGCTTACGCAAAGT	AACAAACAGTTGGACACCCT
2	CS1	AAGCAACTCCAATCCAGCC	TAATGATGAGACGAGTGAGAACG
3	H11 CANN1	GCATGTGGTTGTTTCGTACCC	CAGCGAACATTCACCTAGCTC
4	B01 CANN1	TGGAGTCAAATGAAAGGGAAC	CCATAGCATTATCCCACTCAAG
5	CAN2913	AGGAACACTTTGAAAGCGAG	CGGTCATCTACCTTGAGCTT
6	C11 CANN1	GTGGTGGTGATGATGATAATGG	TGAATTGGTTACGATGGCG
7	CAN0093	CAGTCTCTCAGATCAGACTACC	AGCGGCTAGCGTAACAGTAT
8	ANUC301	ATATGGTTGAAATCCATTGC	TAACAAAGTTTCGTGAGGGT
9	E07 CANN1	CAAATGCCACACCACCTTC	GTGGTAGCCAGGTATAGGTAG
10	B05 CANN1	TTGATGGTGGTGAAACGGC	CCCAATCTCAATCTCAACCC

ДНК каждого растения подвергалась SSR-анализу. Образцы, показывавшие одинаковые данные SSR-анализа, принимались как гомогенные представители сорта, остальные считались гетерогенной примесью. Амплификацию фрагментов ДНК льна проводили с помощью набора из пар 11 SSR-праймеров, нуклеотидные последовательности которых представлены в таблице 4, рыжика посевного – набора из 8 пар SSR-праймеров (табл. 5), конопли посевной – набора из 10 пар SSR-праймеров (табл. 6). SSR-маркеры были мечены флуоресцентными красителями и произведены ООО «НПФ Синтол» (Россия). Реакционная смесь ПЦР объемом 25 мкл содержала: 20 нг исследуемой ДНК, прямой и обратный праймер (оптимальные количества определялись экспериментально), 200 мкМ dNTP, 2,5 мкМ MgCl₂ и 1 единицу Taq-полимеразы. ПЦР осуществляли на амплификаторе T100 MyCycler™ (Bio-Rad Laboratories, Inc.).

Для льна реакцию проводили при следующих условиях: начальная денатурация 5 мин при 94°C; далее следовали 35 циклов: денатурация при 94°C – 30 с, отжиг в течение 45 с (температуру подбирали в зависимости от праймеров), элонгация при 72°C – 40 с; тер-

минальная элонгация – 5 мин, 72°C.

Условия проведения ПЦР рыжика посевного: начальная денатурация 5 мин при 94°C; далее следовали 25 циклов: денатурация при 94°C – 30 с, отжиг в течение 45 с (температуру подбирали в зависимости от праймеров), элонгация при 72°C – 40 с; терминальная элонгация – 5 мин 72°C.

Условия проведения ПЦР конопли посевной: начальная денатурация 3 мин при 95°C; далее следовали 30 циклов: денатурация при 95°C – 30 с, отжиг в течение 30 с при температуре 60°C, элонгация при 72°C – 45 с; терминальная элонгация – 5 мин, 72°C.

ПЦР-продукты были денатурированы формамидом и разделены с помощью капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе НАНОФОР 05 (ООО «НПФ Синтол») с использованием маркера молекулярного веса СД-450 СИНТОЛ (Россия). Анализ результатов осуществляли по наличию или отсутствию в образце аллелей определенной длины в конкретном локусе.

Результаты и их обсуждение. Генотипическая однородность между индивидуальными образцами изученного семенного материала сортообразцов льна представлена в таблицах 7 и 8.

Таблица 7 – Уровень гомогенности исследованных образцов льна-долгунца

№	Сорт	Год регистрации в Госреестре	Уровень однородности, %	№	Сорт	Год регистрации в Госреестре	Уровень однородности, %
1	Тверца	1969	40	31	Зарянка	2004	70
2	Псковский 359	1969	50	32	Мерилин	2005	70
3	Смоленский	1977	40	33	Альфа	2005	70
4	Лазурный	1978	50	34	Росинка	2005	70
5	Торжокский 4	1981	60	35	Лидер	2005	70
6	Союз	1983	50	36	Тост 5	2006	60
7	Славный 82	1986	60	37	Орион	2007	70
8	С 108	1986	50	38	Тост 4	2007	70
9	Новоторжский	1987	60	39	Василек	2009	80
10	Псковский 85	1987	50	40	Пралеска	2009	70
11	Томский 16	1990	70	41	Норд	2009	70
12	А 29	1993	70	42	Добрыня	2011	80
13	Алексим	1993	60	43	Агата	2012	70
14	Кром	1993	60	44	Мелина	2012	70
15	Белочка	1994	60	45	Дипломат	2012	80

№	Сорт	Год регистрации в Госреестре	Уровень однородности, %	№	Сорт	Год регистрации в Госреестре	Уровень однородности, %
16	Смолич	1994	70	46	Памяти Крепкова	2012	70
17	Томский 17	1995	60	47	Александрит	2013	70
18	Томский 18	1995	60	48	Веста	2015	70
19	Могилевский 2	1996	70	49	Грант	2015	70
20	А 93	1997	70	50	Ласка	2015	70
21	Ленок	1997	60	51	Левит 1	2015	60
22	Прибой	1999	60	52	Сурский	2015	70
23	Русич	1999	70	53	Пересвет	2015	80
24	Синичка	2000	70	54	Тонус	2016	80
25	Восход	2000	60	55	Универсал	2017	80
26	Тост	2000	70	56	Цезарь	2017	90
27	Импульс	2002	70	57	Томич	2017	70
28	Тверской	2003	80	58	Визит	2018	80
29	Антей	2003	70	59	Надежда	2018	80
30	Тост 3	2003	60	60	Полет	2019	70
Среднее значение, %							66,8

Примечание: Полужирным шрифтом выделены сорта льна со значением гомогенности 50% и ниже.

Таблица 8 – Уровень гомогенности исследованных образцов льна масличного

№	Сорт	Год регистрации в Госреестре	Уровень однородности, %
1	Исилькульский	1978	40
2	ВНИИМК 620	1994	40
3	Северный	1994	50
4	Небесный	1996	60
5	Ручеек	1998	50
6	Сокол	1998	60
7	ВНИИМК 630	2004	70
8	Кинельский 2000	2004	80
9	ЛМ 98	2008	70
10	Исток	2008	80
11	Бирюза	2013	80
12	Светлячок	2013	80
13	Флиз	2013	80
14	Радуга	2014	80
15	Чибис	2014	70
16	Август	2016	70
17	Даник	2016	70
18	Нилин	2017	80
19	Уральский	2017	70

№	Сорт	Год регистрации в Госреестре	Уровень однородности, %
20	Илим	2018	70
21	РФН	2019	70
22	Рациол	2019	70
23	ВНИИМК 620 ФН	2020	80
24	Ы-117	2020	70
Среднее значение, %			67,9

Примечание: Полужирным шрифтом выделены сорта льна со значением гомогенности 50% и ниже.

Анализируя данные таблиц 7 и 8, следует отметить, что нет прямой зависимости генетической однородности непосредственно от возраста сорта. Например, сорт Василек 2009 года имеет однородность 80%, а сорт Левит 1 2015 года – 60%. Причиной этого может быть то, что каждый сорт претерпевает разное количество репликаций с момента его получения. Для повышения показательности анализа было принято решение отражать данные однородности сортов с помощью среднего значения на одно десятилетие. При сопоставлении данных было выявлено, что

более старые сорта из изученного периода характеризовались и более низким уровнем однородности (рис. 1 и 2). При этом среднее падение однородности сортов от десятилетия к десятилетию составляло от 5% для долгунца и от 7% и более – для масличного льна. Также следует отметить, что сорта льна селекции Торжокского ОП НИИЛ ФНЦ ЛК в среднем имели наиболее высокий уровень сортовой однородности. Вероятно, это связано с большим количеством новых сортов льна, выведенных селекционерами научного подразделения за последние годы.

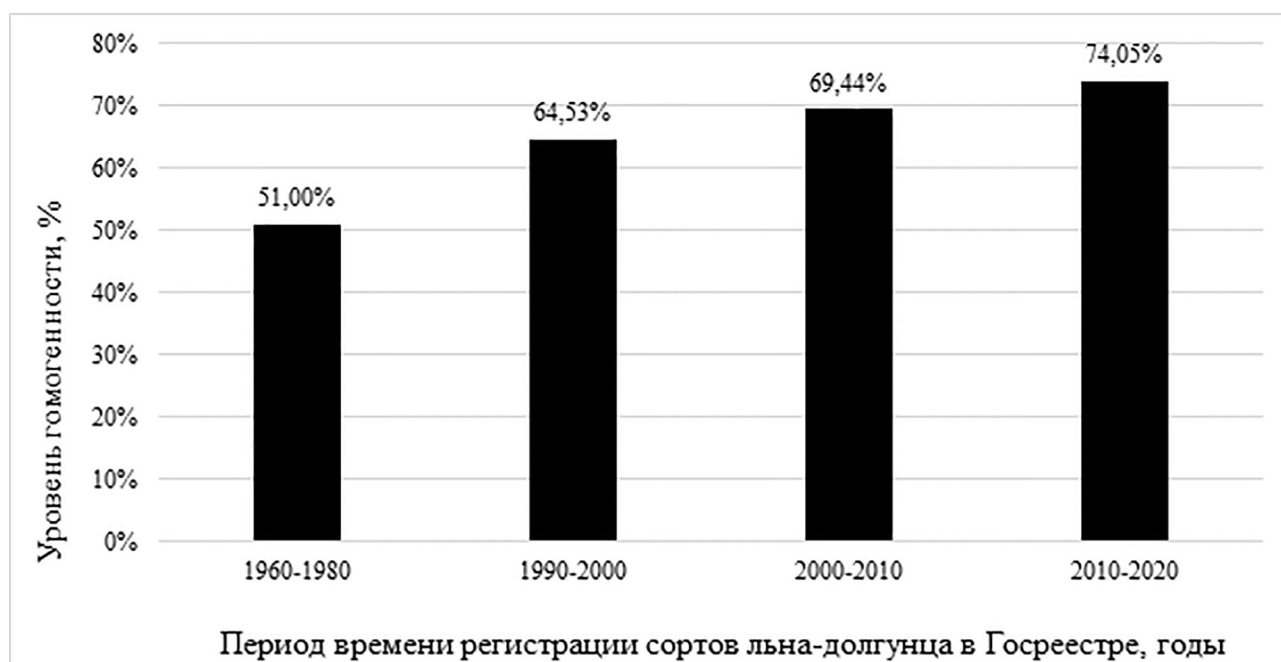


Рисунок 1. График зависимости генетической однородности от года включения сорта в Госреестр для льна-долгунца

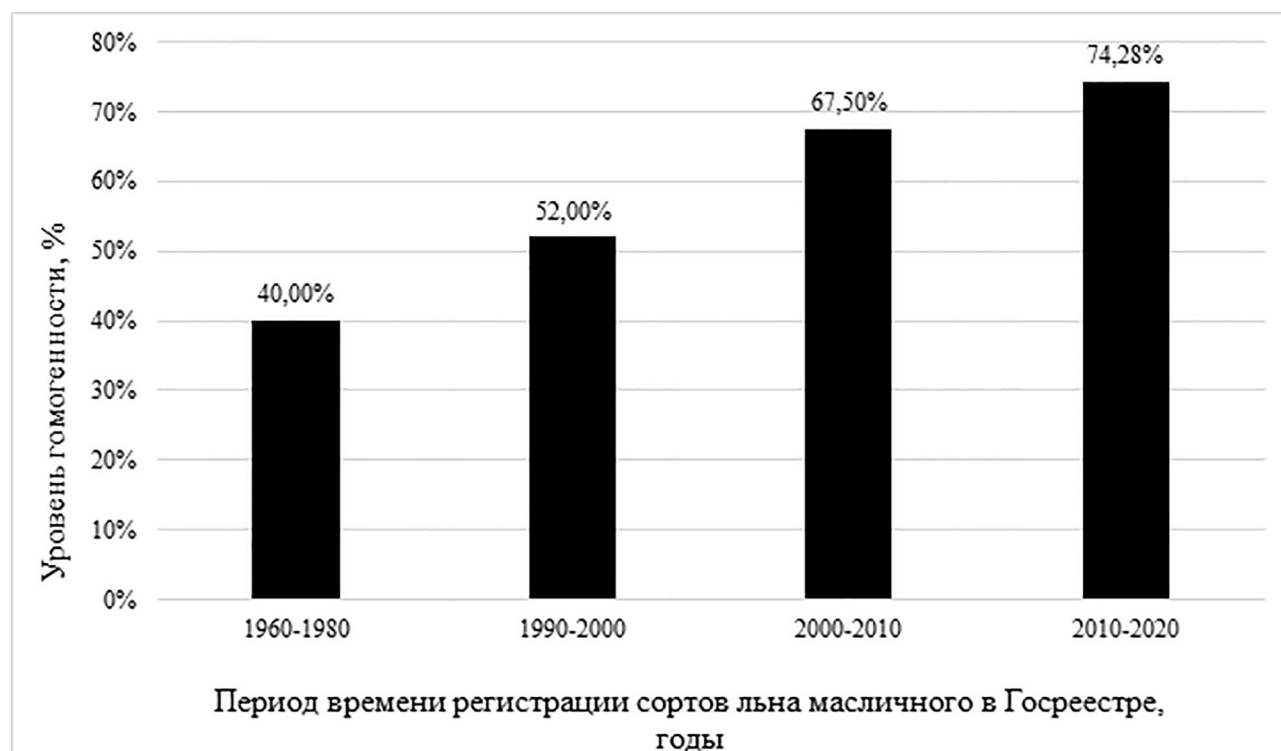


Рисунок 2. График зависимости генетической однородности от года включения сорта в Госреестр для льна масличного

Генетическая однородность между индивидуальными образцами изученного семенного материала сортообразцов рыжика посевного представлена в таблице 9.

Таблица 9 – Уровень гомогенности исследованных образцов рыжика посевного

№	Сорт	Год включения в реестр	Уровень однородности, %
Озимый рыжик			
1	Пензяк	2002	50
2	Козырь	2012	60
3	Передовик	2014	60
4	Карат	2015	50
5	Барон	2016	70
6	Адамас	2017	60
7	Адонис	2020	80
Среднее значение, %			61,4
Яровой рыжик			
1	ВНИИМК-520	1994	40
2	Ужурский	1996	40
3	Исилькулец	1996	40
4	Омич	2007	50
5	Юбиляр	2011	60
6	Екатерининский	2011	50

№	Сорт	Год включения в реестр	Уровень однородности, %
7	Дебют	2013	50
8	Вилла	2017	60
9	Велес	2018	70
10	Кристалл	2018	70
Среднее значение, %			53

Сопоставление данных об однородности семенного материала сортов рыжика посевного (рис. 3) показало более сильную, чем у льна, зависимость снижения однородности сорта от времени создания от 10% на десятилетие и выше. Также первичный уровень

однородности сортов (взятый на период 2010–2020 гг.) составил в целом от 74% у льна до 60–63% у рыжика. Вероятно, эти данные отражают влияние факультативности (доли перекрестного опыления) для этих технических культур

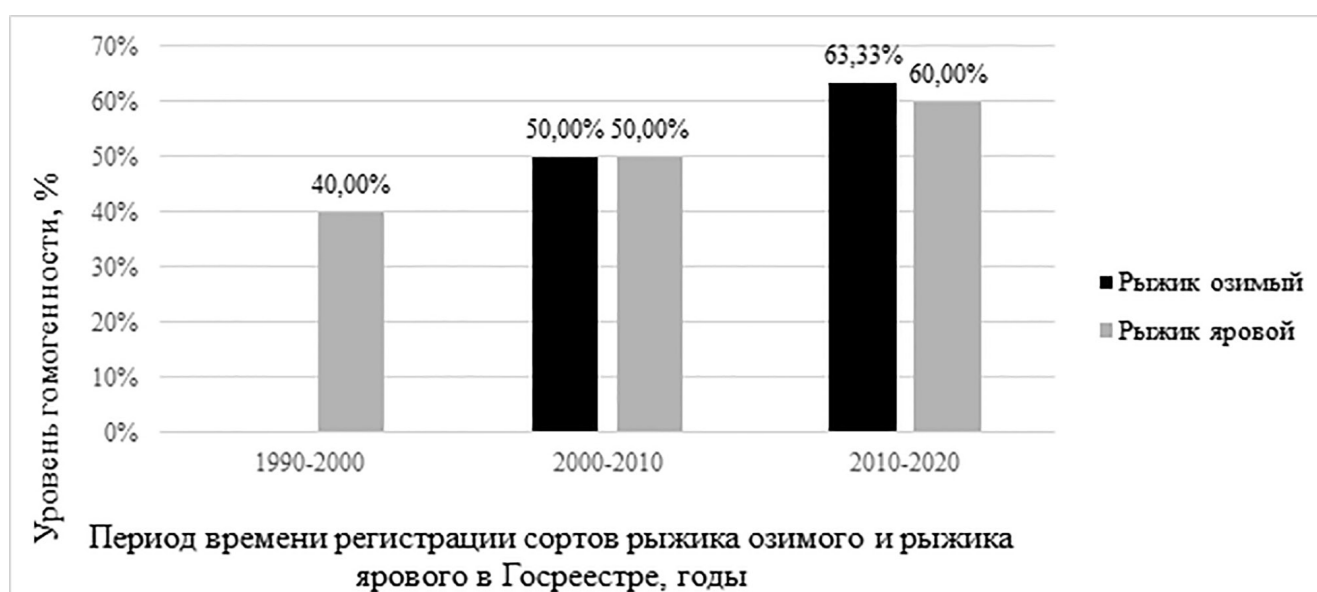


Рисунок 3. График зависимости генетической однородности от года включения сорта в Госреестр для рыжика посевного

SSR-анализ образцов восьми сортов конопли посевной показал интересные результаты. Генетический профиль каждого исследованного образца оказался индивидуален и, таким образом, не может являться основой для оценки генетической однородности сортов конопли. Причиной этого является высокий уровень полиморфизма применен-

ной линейки SSR-маркеров и перекрестный тип опыления данной технической культуры. Тем не менее, по результатам кластерного анализа данных была построена дендрограмма генетического подобия исследованных образцов по методу «neighbor joining method» [9]. Дендрограмма представлена на рисунке 4.

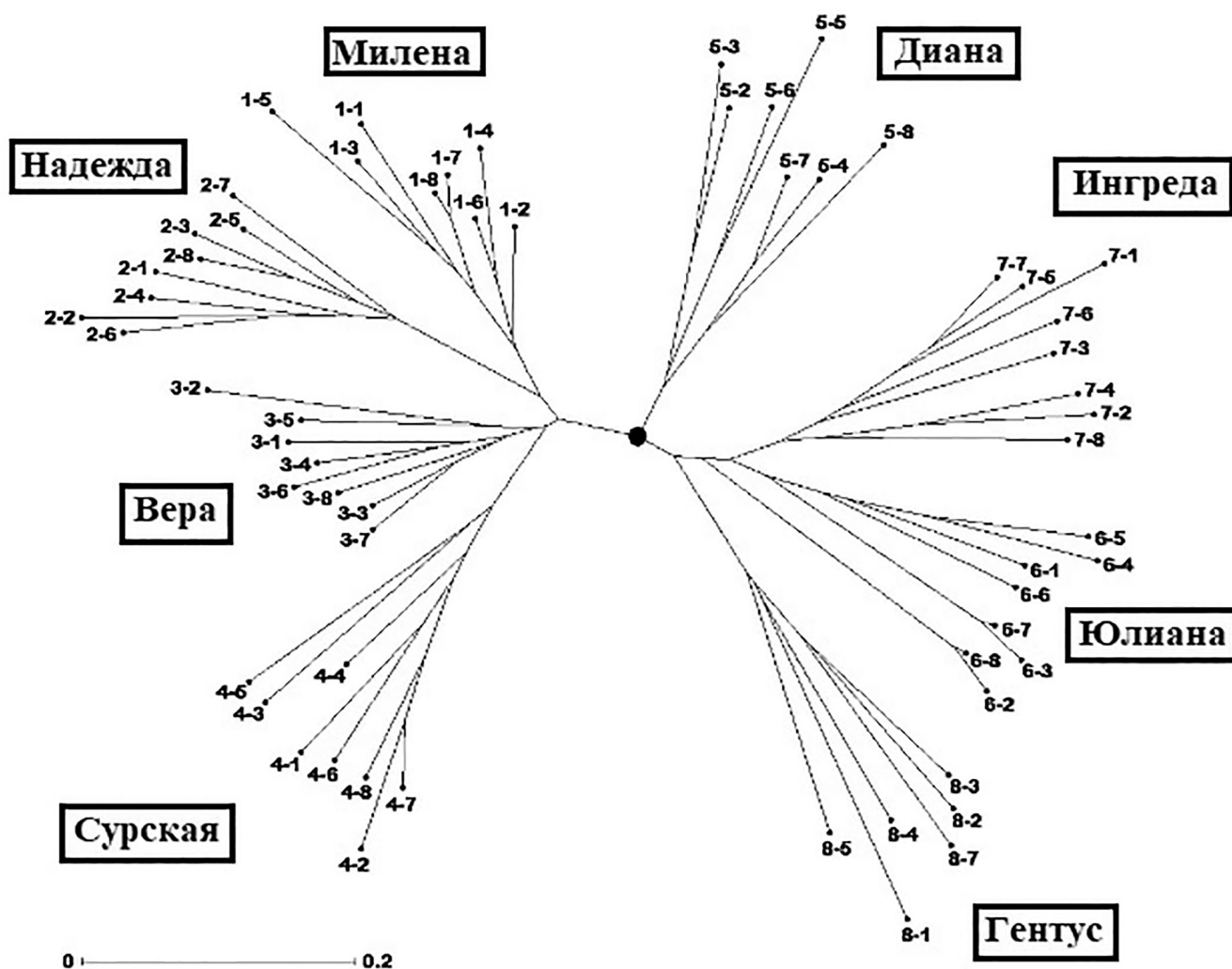


Рисунок 4. Дендрограмма генетического подобию исследованных образцов конопли на основе применения SSR-маркеров

Как показывает дендрограмма, исследованные образцы действительно индивидуальны, но при этом образуют характерные группы, соответствующие сортам. Это говорит о верности выбранного направления работы в области изучения генетической однородности сортов конопли посевной методом молекулярно-генетического маркирования. Для перекрестноопыляемых технических культур следует подбирать линейку SSR-маркеров с меньшим уровнем полиморфизма или использовать другой тип маркеров.

Выводы. Проведенные исследования выявили зависимость генетической однородности исследованных сортов как от времени

их создания, так и от уровня самоопыления культур. Анализ генетической однородности («чистоты сорта») с использованием SSR-маркеров может быть использован в качестве объективного инструмента для решения проблем, возникающих в программе паспортизации семян, в том числе из-за сортовых примесей. Метод SSR-маркирования доступен и позволяет быстро оценивать генетическую чистоту изученных сортов льна, конопли, рыжика. При определении однородности и для паспортизации культур с высоким уровнем факультативности опыления необходимы маркеры, характеризующиеся низким уровнем полиморфизма.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Assessment of genetic purity in rice (*Oryza sativa* L.) hybrids using microsatellite markers / A. Bora [et al.] // 3 Biotech. – 2016. – Vol. 6. – P. 1-7.
2. Галкин Ф.М. Лён масличный: селекция, семеноводство, технология возделывания и уборки / Под ред. Н.И. Бочкарёва. – Краснодар, 2008. – 191 с.
3. Зубков В.В. Перспективная масличная культура озимый рыжик // Самарский земледелец. – 2015. – № 3. – С. 8-13.
4. Идентификация и паспортизация сортов кормовых трав (клевера лугового, люцерны изменчивой, посевной и хмелевидной) на основе ДНК-маркеров / И.А. Клименко [и др.]. – М.: Угреша Т, 2020. – 35 с.
5. Исходный материал для селекции ярового рыжика (*Camelina sativa* (L.) Crantz) по содержанию масла и белка в семенах в различных экологогеографических условиях / Н.Г. Конькова [и др.] // Масличные культуры. – 2020. – № 2(182). – С. 44–50.
6. Katagi A., Patil R.M., Prashant P. Tools for genetic purity testing of horticultural crops—a review // HortFlora Research Spectrum. – 2014. – Vol. 3(2). – P. 108-113.
7. Коломейченко В.В. Полевые и огородные культуры России. Зернобобовые и масличные: учебник для вузов (2-е изд.). – СПб.: Лань, 2018. – 471 с.
8. Махно Ю. Возможности использования электрофореза запасных белков семян в семеноводстве льна масличного // Genetica, fiziologia și ameliorarea plantelor. – 2017. – С. 136-139.
9. Molecular Techniques for Testing Genetic Purity and Seed Health / V. Santhy [et al.] // Seed Science and Technology. – 2023. – P. 365-389.
10. Прахова Т.Я. Продуктивность рыжика озимого в зависимости от приемов технологии возделывания // Молодой ученый. – 2013. – № 6(53). – С. 783-784.
11. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // Molecular biology and evolution. – 1987. – Vol. 44. – P. 406-425.
12. Типы и способы естественного опыления льна обыкновенного *Linum usitatissimum* L. / С.В. Зеленцов [и др.] // Масличные культуры. – 2018. – № 1(173). – С. 105-113.
13. Thomas V.F., ElSohly M.A. The botany of *Cannabis sativa* L. // The Analytical Chemistry of Cannabis. – 2016. – P. 1-26.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Базанов Тарас Александрович, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией, кандидат хим. наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр лубяных культур», 17/56, Комсомольский проспект, г. Тверь, Российская Федерация, 170041, e-mail: t.bazanov@fncl.ru

Ущановский Игорь Валентинович, ведущий научный сотрудник, заместитель директора по науке, кандидат биол. наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр лубяных культур», 17/56, Комсомольский проспект, г. Тверь, Российская Федерация, 170041.

Логинова Наталья Николаевна, научный сотрудник, Федеральное государственное

бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр лубяных культур», 17/56, Комсомольский проспект, г. Тверь, Российская Федерация, 170041.

Смирнова Екатерина Витальевна, младший научный сотрудник, аспирант, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр лубяных культур», 17/56, Комсомольский проспект, г. Тверь, Российская Федерация, 170041.

Михайлова Полина Дмитриевна, младший научный сотрудник, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр лубяных культур», 17/56, Комсомольский проспект, г. Тверь, Российская Федерация, 170041.

Taras A. Bazanov, leading researcher, head of the laboratory PhD in Chemical Science, Federal State Budgetary Research Institution «Federal Research Center for Bast Fiber Crops», 17/56 Komsomolsky pr., Tver, Russian Federation, 170041, e-mail: t.bazanov@fncl.ru

Igor V. Ushapovsky, leading researcher, deputy director for science, PhD in Biological Science, Federal State Budgetary Research Institution «Federal Research Center for Bast Fiber Crops», 17/56 Komsomolsky pr., Tver, Russian Federation, 170041

Natalya N. Loginova, researcher, Federal State Budgetary Research Institution «Federal

Research Center for Bast Fiber Crops», 17/56 Komsomolsky pr., Tver, Russian Federation, 170041

Ekaterina V. Smirnova, junior researcher, Federal State Budgetary Research Institution «Federal Research Center for Bast Fiber Crops», 17/56 Komsomolsky pr., Tver, Russian Federation, 170041

Polina D. Mikhaylova, junior researcher, Federal State Budgetary Research Institution «Federal Research Center for Bast Fiber Crops», 17/56 Komsomolsky pr., Tver, Russian Federation, 170041