

**Микросателлитные локусы  
для идентификации сортов льна  
масличного селекции ВНИИМК:  
подбор информативных  
праймеров и оптимальных  
условий ПЦР ДНК**

**Т.А. Челюстникова,**  
аналитик

**С.З. Гучетль,**  
кандидат биологических наук

**Т.С. Антонова,**  
доктор биологических наук

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

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

Тел.: (861) 275-86-53

E-mail: saida.guchetl@mail.ru

*Для цитирования:* 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. – 2019. – Вып. 2 (178). – С. 41–46.

**Ключевые слова:** лен, ДНК, полимеразная цепная реакция, микросателлиты.

Целью исследования данной работы является подбор информативных микросателлитных локусов и оптимальных условий ПЦР ДНК для создания молекулярно-генетических паспортов льна селекции ВНИИМК. Материалом для исследования служили восемь образцов льна масличного лаборатории селекции льна ВНИИМК: ВНИИМК 620, К4193, К4194, К4195, К4196, К4197, К4198, К4199. ДНК выделяли из растений, выращенных до стадии «елочки», с использованием СТАВ-буфера. Для проведения работы были выбраны 10 микросателлитных локусов. В результате работы для каждой пары праймеров, в соответствии с их нуклеотидной последовательностью, был произведен подбор оптимальной температуры отжига. Она составила от 58 до 60 °С. ПЦР ДНК с данными праймерами выявила 11 микросателлитных локусов у восьми генотипов льна. В зависимости от локуса число аллелей варьировало от 2 до 4 (в среднем 3 аллеля на локус). Эффективное число аллелей  $n_e$  составило от 1,42 до 3,22, а значение индекса полиморфного информационного содержания PIC – от 0,30 до 0,69. Из восьми образцов три оказались генетически неоднородными. Про-

анализированные образцы в основном различались по аллельному состоянию локусов, но два генотипа (К4196 и К4195), по 11 SSR-локусам имели неотличимый аллельный состав. Таким образом, изученные маркеры могут быть использованы для создания молекулярно-генетических паспортов и определения генетической однородности сортов льна масличного селекции ВНИИМК. Однако их недостаточно для различения близкородственных генотипов. Необходимо провести дополнительную апробацию других маркеров, обладающих высоким уровнем полиморфизма.

UDC 633.854.54:633.52:575

**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.**

**T.A. Chelyustnikova,** analyst

**S.Z. Guchetl,** PhD in biology

**T.S. Antonova,** doctor of biology

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

17 Filatova street, Krasnodar, 350038, Russia

Tel.: (861) 275-86-53

E-mail: saida.guchetl@mail.ru

**Key words:** oil flax, DNA, polymerase chain reaction, microsatellites.

The aim of the research was the selection of informative microsatellite loci and optimal conditions for DNA PCR in order to create molecular genetic passports of oil flax varieties of the breeding of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops. Eight entries of oil flax of the laboratory of oil flax breeding of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops became the material for the research: VNIIMK 620, K4193, K4194, K4195, K4196, K4197, K4198, K4199. The DNA was isolated from the plants at the stage of appearance of 4-6 leaves using CTAB buffer. We selected ten microsatellite loci for the research. As a result, the optimal annealing temperature was selected for each pair of primers in accordance with their nucleotide sequence. It varied from 58 to 60 °C. DNA PCR with these primers revealed 11 microsatellite loci in eight flax genotypes. Depending on the locus, the number of alleles varied from 2 to 4 (on average, 3 alleles per locus). The efficient number of  $n_e$  alleles was from 1.42 to 3.22, and the index value of polymorphic information content of PIC was from 0.30 to 0.69. Three of eight samples were genetically heterogeneous. The analyzed samples mainly differed in the allelic condition of loci but two genotypes (K4196 and K4195) had an indistinguishable allelic composition in 11 SSR-loci. As a result, the studied markers can be used to create mo-

lecular genetic passports and to determine the genetic homogeneity of flax varieties of the breeding of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops. However, they are not enough to distinguish closely related genotypes. It is necessary to conduct additional testing of other markers with a high level of polymorphism.

**Введение.** Лен масличный – ценная техническая культура. В семенах современных сортов льна масличного содержится около 50 % быстро высыхающего масла, которое используют в различных отраслях промышленности и в медицине. Оно высоко ценится в производстве лакокрасочных материалов. Возрождается интерес к использованию льняного масла в пищу в связи с его лечебно-профилактическими свойствами. Льняное масло содержит высокую долю  $\alpha$ -линоленовой кислоты, которая способствует снижению в организме уровня холестерина, улучшению жирового и белкового обмена, уменьшает вероятность образования тромбов и опухолей [1].

Лен экологически пластичная культура, с широким ареалом возделывания, что обусловлено его высоким потенциалом в отношении тепло- и влагообеспеченности [2]. По прогнозу к 2020 г. в России культурой может быть занято до 1 млн га [3]. Перспектива увеличения площади посева культуры является одним из стимулов для создания новой линейки сортов. Программа селекции льна предусматривает скрещивание соответственно подобранных родительских форм. Успех селекции во многом определяется разнообразием исходного материала. Выявить генетическое разнообразие и определить потенциал продуктивности исходного и селекционного материала льна возможно сопоставлением различий в нуклеотидных последовательностях ДНК. В работах по изучению генетического разнообразия, идентификации сортов наиболее распространёнными и высокоэффективными являются маркерные системы, основанные на вариабельности микросателлитных последовательностей генома [4]. Микросателлитные локусы – это в основном, некодирующие участки ДНК, в них могут

накапливаться мутации, что обуславливает высокий полиморфизм этих зон. Чаще всего они обладают кодоминантным типом наследования. Такие простые повторы широко распространены в геномах растений. SSR-маркеры позволяют идентифицировать разнородный сортовой материал, устанавливать филогенетические связи, вычислять генетические дистанции между сортами для подбора родительских пар [5; 6; 7; 8]. Этот вид маркеров широко используется в генетических исследованиях льна. Первая генетическая карта генома льна на основе SSR-локусов включает 24 группы сцепления со 113 маркерами, охватывающими 833,8 сМ [9]. Полиморфизм сортов льна выше, чем у сортов пшеницы, ячменя и сои. Степень полиморфизма в коллекциях образцов существенно варьирует в зависимости от числа исследованных генотипов и их генетического разнообразия [10]. Лен, как культурное растение, имеет большую базу данных микросателлитных локусов. Описано 10306 SSR-маркеров, что выгодно отличает его от других сельскохозяйственных культур [11]. Xin Deng с соавторами (2011) создали геномную библиотеку льна, охарактеризовали 206 нуклеотидных последовательностей, содержащих микросателлиты. При оценке восьми культурных сортов льна, происходящих из различных стран, 38 микросателлитных локусов проявили себя как полиморфные [12]. На основе полиморфизма микросателлитных локусов составлена система, позволяющая проводить генотипирование образцов льна, сложно различимых или неотличимых друг от друга при морфологическом анализе [10]. Но при использовании системы молекулярных маркеров, созданной для определенной коллекции генетических образцов, генетическом окружении и условиях окружающей среды, её необходимо апробировать на способность предсказывать генотип в отличающихся условиях [13; 14].

Поскольку молекулярно-генетическое разнообразие исходного и селекционного материала коллекции льна селекции ВНИИМК ранее не изучалось, целью

данной работы является подбор информативных микросателлитных локусов и оптимальных условий ПЦР ДНК для создания молекулярно-генетических паспортов льна.

**Материалы и методы.** Материалом для исследования служили 8 сортообразцов льна масличного из конкурсного сортоиспытания (КСИ) лаборатории селекции льна ВНИИМК: ВНИИМК 620, K4193, K4194, K4195, K4196, K4197, K4198, K4199. Семена каждого образца сеяли в пластиковый сосуд и выращивали растения до стадии «елочки», в условиях камеры искусственного климата Биотрон-5. Из двух растений каждого образца выделяли ДНК. Изоляцию и очистку ДНК проводили методом Sanghai-Marooof et al. с использованием СТАВ-буфера [15]. Для проведения работы были выбраны 10 микросателлитных локусов, которые при оценке набора из восьми сортов культурного льна различного происхождения имели PIC (индекс полиморфного информационного содержания) в пределах 0,525–0,881 с числом аллелей от 4 до 12 [12]. Нуклеотидные последовательности праймеров, фланкирующих SSR-локусы, синтезированы фирмой «Синтол» (Москва).

Реакционная смесь для проведения ПЦР имела следующий состав: 67 мМ трис-НСl, рН 8,8, 16,6 мМ сульфата аммония, 3 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,01 %-ный Tween 20, 0,2 мМ каждого из дезоксирибонуклеозидфосфатов, 10 пМ праймера, 10 нг матричной ДНК и 1 ед. рекомбинантной термостабильной ДНК полимеразы (Сибэнзим, Москва). Амплификация проходила в термоциклере S1000™ (BioRad, США) при следующих условиях: начальная денатурация при 95 °С в течение 2 мин; затем 30–35 циклов при соблюдении температурно-временного режима: отжиг при 58–60 °С в течение 40 с, элонгация – 1 мин при 72 °С, денатурация при 94 °С – 30 с, финальная элонгация – 2 мин. Температуру отжига подбирали в соответствии с нуклеотидной последовательностью праймеров.

Электрофорез продуктов амплификации проводили в 8 %-ном акриламидном

геле, приготовленном с применением 1 x ТБЕ буфера, использовали камеры для вертикального электрофореза (VE-20, ДНК-технология, Россия). Окрашивание осуществляли бромистым этидием. Визуализировали и документировали результаты электрофореза, используя систему цифровой документации BIO-PRINT (Vilber Lourmat, Франция). Размер фрагментов ДНК определяли с использованием программного обеспечения Bio-Capture (Vilber Lourmat, Франция) относительно маркера длины фрагментов ДНК GeneRuler 100 bp DNA Ladder Thermo Scientific.

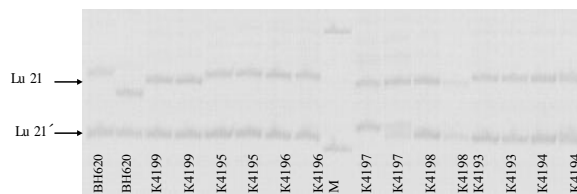
Индекс информационного полиморфного содержания (PIC) [16] и эффективное число аллелей ( $n_e$ ) [17] вычисляли по формулам:

$$PIC = 1 - \sum_{j=1}^n P_{ij}^2, \quad (1)$$

$$n_e = 1 / \sum_{j=1}^n P_{ij}^2, \quad (2)$$

где – P частота j паттерна для локуса i и суммирование распространяется на n паттернов.

**Результаты и обсуждение.** В результате работы для каждой из 10 пар праймеров, в соответствии с их нуклеотидной последовательностью, был произведен подбор оптимальной температуры отжига. Она составила от 58 до 60 °С. ПЦР ДНК с данными праймерами выявила 11 микросателлитных локусов у 8 генотипов льна. Праймерные последовательности для мотивов (TTC)4 и T(TTC)18, фланкирующие локус Lu 21 [12], амплифицировали два локуса, обозначенные как Lu 21 и Lu 21' (рис. 1).



*Рисунок 1* – Электрофоретические спектры продуктов амплификации ДНК образцов льна масличного по локусам Lu 21 и Lu 21'.

M – маркер молекулярной массы 100 пн.

Учитывая набор амплифицированных фрагментов ДНК и определив их размер, получили характеристики аллельного состава образцов (табл. 1).

Таблица 1

**Аллельный состав образцов льна масличного по 11 SSR-локусам**

Образец	Локус										
	Lu 1	Lu 3	Lu 7	Lu 8	Lu 9	Lu 10	Lu 11	Lu 21	Lu 21'	Lu 24	Lu 25
K4193	160	160	150	110	110	156	112	150	109	105	169
K4194	160	160	150	110, 170	110	165	112	150	109	105	116, 169
K4195	160	160	150	170	110	148	112	150	104	105	169
K4196	160	160	150	170	110	148	112	150	104	105	169
K4197	160, 163, 182	160, 165, 273, 244	145	170	110, 164	165	112, 161	145	109, 118	105, 156	169
K4198	163	160	145	170	164	165	161	145	109	156	169
K4199	163	165	145	170	164	148	161	145	104	163	169
ВНИИМК 620	158	160	135, 150	110	110	138	112	136, 150	118	115	169

Анализируемые образцы в основном отличались по аллельному состоянию локусов (табл. 1). Только два генотипа K4196 и K4195 по одиннадцати локусам имели сходный аллельный состав. Для их идентификации и последующего генотипирования коллекции сортов льна масличного следует увеличить количество локусов.

Мономорфных локусов обнаружено не было. По два аллеля выявлено для локусов Lu 8, Lu 9, Lu 11, Lu 25, по три – для Lu 7, Lu 21, Lu 21' и по 4 – для Lu 1, Lu 3, Lu 10, Lu 24. В целом, с помощью 10 пар SSR-праймеров выявлено 11 полиморфных локусов, которые в совокупности амплифицировали 33 аллеля размером от 104 до 273 пар нуклеотидов. В зависимости от локуса число аллелей варьировало от 2 до 4 (в среднем 3 аллеля на локус). Эффективное число аллелей  $n_e$  составило от 1,42 до 3,22, в среднем 2,08, а значение индекса полиморфного информационного содержания PIC – от 0,30 до 0,69, в среднем 0,49 (табл. 2).

Работа проведена на наборе микросателлитных локусов, которые при испытании на восьми сортах культурного льна, происходящего из различных стран (Канада, Эфиопия, Китай, США и Франция),

проявили себя высокоинформативными: PIC для данной коллекции составил от 0,59 до 0,88 [12]. Общеизвестно, что степень полиморфизма может существенно варьировать в зависимости от числа исследуемых генотипов и их генетического разнообразия [10]. Сортообразцы, использованные в нашей работе, взяты из КСИ, и их количество невелико. Это объясняет тот факт, что показатели информативности SSR-локусов, полученные для коллекции образцов льна ВНИИМК, несколько ниже, чем заявлены в работе Xin Deng (2011) [12].

Таблица 2

**Показатели информативности SSR-локусов, использованных в работе**

Локус	Число аллелей		PIC
	наблюдаемое	эффективное	
Lu 1	4	2,32	0,57
Lu 3	4	1,42	0,30
Lu 7	3	2,22	0,55
Lu 8	2	1,72	0,42
Lu 9	2	1,72	0,42
Lu 10	4	3,22	0,69
Lu 11	2	1,72	0,42
Lu 21	3	2,22	0,55
Lu 21'	3	2,56	0,61
Lu 24	4	2,43	0,59
Lu 25	2	1,42	0,30
Среднее	3	2,08	0,49

Несмотря на то, что механизм цветения и опыления обеспечивает преимущественное самоопыление цветков льна и блокирует возможность перекрестного опыления, его возможность полностью не исключается [1]. Это может приводить к гетерогенности образцов. Кроме биологического загрязнения, возможно наличие механической примеси семян другого сорта. Использованный набор локусов дал возможность обнаружить генетическую неоднородность некоторых изученных образцов. ДНК проростков K4194, K4197, ВНИИМК 620 показала различия в аллельном составе. Образец ВН620 полиморфен по локусам Lu 7 и Lu 21. Образец K4197 неоднороден по локусам Lu 1, Lu 3, Lu 9, Lu 11, Lu 21' и Lu 24, K4194 – по локусам Lu 8 и Lu 25 (рис. 1, 2).

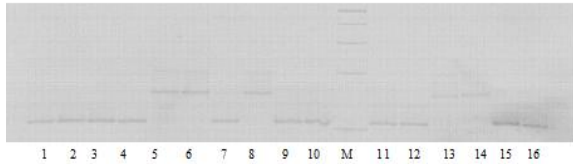


Рисунок 2 – Электрофоретические спектры продуктов амплификации ДНК образцов льна масличного по локусу Lu 9. Дорожки: 1, 2 – K4194; 3, 4 – K4193; 5, 6 – K4198; 7, 8 – K4197; 9, 10 – K4196; 11, 12 – K4195; 13, 14 – K4199; 15, 16 – ВНИИМК 620, М – маркер молекулярного веса

В образцах K4193, K4198, K4196, K4195, K4199 не выявлено различий между растениями.

**Заключение.** В результате апробации 10 пар праймеров, описанных в литературе как фланкирующие микросателлитные участки ДНК льна масличного, применительно к восьми сортообразцам культуры коллекции ВНИИМК выявлено 11 полиморфных локусов. В зависимости от локуса число аллелей варьировало от 2 до 4 (в среднем 3 аллеля на локус). Эффективное число аллелей  $n_e$  составило от 1,42 до 3,22, а значение индекса полиморфного информационного содержания PIC – от 0,30 до 0,69. Из восьми образцов три оказались генетически неоднородными. Проанализированные образцы в основном различались по аллельному состоянию локусов, но два генотипа – K4196 и K4195 – по 11 SSR-локусам имели неотличимый аллельный состав. Таким образом, изученные маркеры могут быть использованы для создания молекулярно-генетических паспортов и определения генетической однородности сортов льна масличного селекции ВНИИМК. Однако их недостаточно для различения близкородственных генотипов. Необходимо провести дополнительную апробацию других маркеров, обладающих высоким уровнем полиморфизма.

#### Список литературы

1. Галкин Ф.М. Лён масличный: селекция, семеноводство, технология возделывания и уборки / Под ред. Н.И. Бочкарёва. – Краснодар, 2008. – С. 7–65.
2. Дьяков А.Б. Физиология и экология льна. – Краснодар, 2006. – 214 с.

3. Лукомец В.М., Кочегура А.В., Рябенко Л.Г. Современное состояние производства и научного обеспечения льна масличного // Роль льна в улучшении среды обитания и активном долголетии человека: материалы междунар. науч.-практ. семинара, г. Торжок, 26–28 сентября 2011 г. – Тверь: Твер. гос. ун-т, 2012. – С. 33–43.

4. Плугатарь Ю.В., Бабкина Р.Д., Сунрун И.И., Науменко Т.С., Алексеев Я.И. Оценка сортов груш, выделенных из генофондовой коллекции Никитского ботанического сада по комплексу хозяйственно ценных признаков с помощью микросателлитных маркеров // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2018. – №. 22 (1). – С. 60–68. DOI: 10.18699/VJ18.322.

5. Чесноков Ю.А. ДНК-фингепринт и анализ генетического разнообразия у растений // Сельскохозяйственная биология. – 2005. – № 1. – С. 20–40.

6. Brown S.M., Szewc McFadden A.K., Kresovich S. Development and application of simple sequence repeat (SSR) loci for plant genome analysis // In: Methods of genome analysis in plants / Ed. P.P. Jauhar. – N.-Y., London, Tokyo, 1996. – P. 147–159.

7. Рамазанова С.А., Гучетль С.З., Челюстникова Т.А., Антонова Т.С. Полиморфизм микросателлитных локусов ДНК у сортов сои селекции ВНИИМК // Современные проблемы научного обеспечения производства подсолнечника: сборник докладов междунар. науч.-практ. конф., посвященной 120-летию со дня рождения акад. В.С. Пустовойта. ВНИИ масличных культур. – 2006. – С. 234–239.

8. Гучетль С.З., Челюстникова Т.А., Рамазанова С.А., Антонова Т.С. Молекулярно-генетическая характеристика инбредных линий подсолнечника по изоферментным маркерам и ДНК-профилям // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2004. – Вып. 2 (131). – С. 42–46.

9. Cloutier S., Ragupathy R., Niu Z., Duguid S. SSR-based linkage map of flax (*Linum usitatissimum* L.) and mapping of QTLs underlying fatty acid composition traits // Mol. Breed. – 2011. – V. 13 (4). – P. 437–451. DOI: 10.1007/s11032-010-9494-1.

10. Уцаповский 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. – Т. 51. – № 5. – С. 602–616. DOI: 10.15389/agrobiol.2016.5.602rus.

11. Varshney R.K., Glaszmann J.C., Leung H., Ribaut J.M. More genomic resources for less-studied crops // Trends. Biotechnol. – 2010. – V. 28 (9). – P. 452–460. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.06.007.

12. Xin Deng, SongHua Long, DongFeng He, Xiang Li, YuFu Wang, DongMei Hao, CaiSheng Qiu and XinBo Chen. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from flax (*Linum usitatissimum* L.) // African Journal of Biotechnology. – 2011. – Vol. 10 (5). – P. 734–739.

13. *Леонова И.Н.* Молекулярные маркеры: использование в селекции зерновых культур для идентификации, интрогрессии и пирамидирования генов // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17. – № 2. – С. 314–325.

14. *Гучетль С.З., Фролов С.С., Зайцев Р.Н., Кузнецова Е.С.* Паспортизация линий и гибридов подсолнечника селекции Армавирской опытной станции ВНИИМК: подбор оптимальных ДНК локусов и условий ПЦР // Масличные культуры. Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2017. – Вып. 3 (171). – С. 23–28.

15. *Saghai-Marooif M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W.* Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // PNAS USA. – 1984. – V. 81. – P. 8014–8018.

16. Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях: Научно-методическое руководство / Под ред. Сиволапа Ю.М. – Киев: Аграрна наука, 1998. – 156 с.

17. *Айала Ф., Дж. Кайгер.* Современная генетика. Т. 3. – М.: Мир, 1988. – 332 с.

#### References

1. Galkin F.M. Len maslichnyy: selektsiya, semenovodstvo, tekhnologiya vozdeleyvaniya i uborki / Pod red. N.I. Bochkareva. – Krasnodar, 2008. – S. 7–65.

2. D'yakov A.B. Fiziologiya i ekologiya l'na. – Krasnodar, 2006. – 214 s.

3. Lukomets V.M., Kochegura A.V., Ryabenko L.G. Sovremennoye sostoyaniye proizvodstva i nauchnogo obespecheniya l'na maslichnogo // Rol' l'na v uluchshenii srede obitaniya i aktivnom dolgoletii cheloveka: materialy mezhdunar. nauch.-prakt. seminar, g. Torzhok, 26–28 sentyabrya 2011 g. – Tver': Tver. gos. un-t, 2012. – S. 33–43.

4. Plugatar' YU.V., Babkina R.D., Suprun I.I., Naumenko T.S., Alekseyev YA.I. Otsenka sortov grush, vydelennykh iz genofondovoy kolleksii Nikitskogo botanicheskogo sada po kompleksu khozyaystvenno tsennykh priznakov s pomoshch'yu mikrosatellitnykh markerov // Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. – 2018. – No. 22 (1). – S. 60–68. DOI: 10:18699|VJ18.322.

5. Chesnokov YU.A. DNK-fingerprint i analiz geneticheskogo raznobraziya u rasteniy // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. – 2005. – No 1. – S. 20–40.

6. Brown S.M., Szewc McFadden A.K., Kresovich S. Development and application of simple sequence repeat (SSR) loci for plant genome analysis // In: Methods of genome analysis in plants / Ed. P.P. Jauhar. – N.-Y., London, Tokyo, 1996. – P. 147–159.

7. Ramazanova S.A., Guchetl' S.Z., Chelyustnikova T.A., Antonova T.S. Polimorfizm mikrosatellitnykh lokusov DNK u sortov soi selektsii VNIIMK // Sovremennyye problemy nauchnogo obespecheniya proizvodstva podsolnechnika: sbornik dokladov mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashchennoy 120-

letiyu so dnya rozhdeniya akad. V.S. Pustovoyta. VNIIMK maslichnykh kul'tur. – 2006. – S. 234–239.

8. Guchetl' S.Z., Chelyustnikova T.A., Ramazanova S.A., Antonova T.S. Molekulyarno-geneti-cheskaya kharakteristika inbrednykh liniy podsolnechnika po izofermentnym markeram i DNK-profil'yam // Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2004. – Vyp. 2 (131). – S. 42–46.

9. Cloutier S., Ragupathy R., Niu Z., Duguid S. SSR-based linkage map of flax (*Linum usitatissimum* L.) and mapping of QTLs underlying fatty acid composition traits // Mol. Breed. – 2011. – V. 13 (4). – P. 437–451. DOI: 10.1007/s11032-010-9494-1.

10. Ushchapovskiy I.V., Lemeshev V.A., Bogdanova M.V., Guzenko E.V. Osobennosti selektsii i perspektivy primeneniya molekulyarno-geneticheskikh metodov v genetiko-selektsionnykh issledovaniyakh l'na (*Linum usitatissimum* L.) // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. – 2016. – T. 51. – No 5. – S. 602–616. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.5.602rus.

11. Varshney R.K., Glaszmann J.C., Leung H., Ribaut J.M. More genomic resources for less-studied crops // Trends. Biotechnol. – 2010. – V. 28 (9). – P. 452–460. DOI: 10.1016/j.tibtech.2010.06.007.

12. Xin Deng, SongHua Long, DongFeng He, Xiang Li, YuFu Wang, DongMei Hao, CaiSheng Qiu and XinBo Chen. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers from flax (*Linum usitatissimum* L.) // African Journal of Biotechnology. – 2011. – Vol. 10 (5). – P. 734–739.

13. Leonova I.N. Molekulyarnyye markery: ispol'zovaniye v selektsii zemnykh kul'tur dlya identifikatsii, introgressii i piramirovaniya genov // Vavilovskiy zhurnal genetiki i selektsii. – 2013. – T. 17. – № 2. – S. 314–325.

14. Guchetl' S.Z., Frolov S.S., Zaytsev R.N., Kuznetsova E.S. Paspportizatsiya liniy i gibridov podsolnechnika selektsii Armavirskoy opytnoy stantsii VNIIMK: podbor optimal'nykh DNK lokusov i usloviya PTSR // Maslichnyye kul'tury. Nauch.-tekhn. byul. VNIIMK. – 2017. – Vyp. 3 (171). – S. 23–28.

15. Saghai-Marooif M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics // PNAS USA. – 1984. – V. 81. – P. 8014–8018.

16. Ispol'zovaniye PTSR-analiza v genetiko-selektsionnykh issledovaniyakh: Nauchno-metodicheskoye rukovodstvo / Pod red. Sivolapa YU.M. – Kiyev: Agrarna nauka, 1998. – 156 s.

17. Ay-ala F., Dzh. Kayger. Sovremennaya genetika. T. 3. – М.: Мир, 1988. – 332 с.

*Получено:* 11.02.2019 *Принято:* 30.04.2019

*Received:* 11.02.2019 *Accepted:* 30.04.2019