

---

ГЕНЕТИКА, БИОТЕХНОЛОГИЯ, СЕЛЕКЦИЯ И СЕМЕНОВОДСТВО

---

**Анализ информативности и применимости  
опубликованных SSR-маркеров для паспортизации сортов  
масличного льна (*Linum usitatissimum* L.) российской селекции**

**Алена Сергеевна Истомина, Дмитрий Леонидович Савиченко,  
Саида Заурбиевна Гучетль**✉

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

✉ **Автор, ответственный за переписку:** saida.guchetl@mail.ru

**Аннотация**

Масличный лен – сельскохозяйственная культура, масло которой является ценным источником полиненасыщенных жирных кислот. В настоящее время остро стоит вопрос о молекулярно-генетической паспортизации сельскохозяйственных растений в РФ, в том числе льна. Существующие методики обладают рядом недостатков, что обуславливает необходимость поиска новых высокоинформативных ДНК-маркеров. Целями исследований являлись *in silico* и экспериментальная проверка микросателлитных (SSR) маркеров из источников литературы, оценка их полиморфизма и информативности для поиска кандидатов для включения в панель ДНК-маркеров для мультиплексной ПЦР и разработки генетических паспортов сортов льна, а также определение внутрисортного полиморфизма сортов льна для оценки возможности их надежной паспортизации и дальнейшей идентификации. Для отбора оптимальных микросателлитных (SSR) маркеров был проведен биоинформатический анализ более 1300 нуклеотидных микросателлитных последовательностей из источников литературы. Критериями отбора служили: 3–6 нуклеотидный мотив, специфичность амплификации *in silico* и температура отжига праймеров. В результате предварительного скрининга отобрано 63 из них. Их экспериментальная проверка на 7 сортах масличного льна селекции ВНИИМК позволила идентифицировать 27 перспективных локусов. Дальнейшая валидация на расширенной панели из 23 сортов показала, что большинство маркеров обладают умеренным или низким дискриминационным потенциалом (PIC от 0,08 до 0,46). Исключение составили 4 высокополиморфных SSR-локуса: KY326304, KY326942, KY326968 и Lu2332 (PIC > 0,5), которые рекомендуются для включения в итоговую панель маркеров для создания генетических паспортов. Анализ внутрисортного полиморфизма, исследованный на малых выборках с помощью 27 маркеров, выявил его низкий уровень (средние значения:  $N_a = 1,27$ ;  $N_e = 1,19$ ;  $I = 0,15$ ). Это подтверждает возможность молекулярно-генетической идентификации сортов льна. Для создания полноценной методики паспортизации необходимо продолжение исследований, направленных на разработку новых информативных SSR-маркеров с применением современных биоинформатических подходов и анализа данных геномных библиотек.

**Ключевые слова**

масличный лен, *Linum usitatissimum*, SSR-маркеры, сорта, праймеры, аллели, паспортизация

## Благодарности

Работа выполнена в рамках Государственного задания FGRU-2024-0005 «Разработка и валидация систем молекулярно-генетического маркирования селекционно-ценных признаков и генотипирования масличных культур».

Авторы выражают благодарность заведующей лаборатории селекции льна масличного ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК Л.Г. Рябенко, заведующей лаборатории мелкосемянных масличных культур филиала ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК «Донская опытная станция имени Л.А. Жданова» Т.Н. Лучкиной и заведующей лаборатории селекции и семеноводства льна масличного филиала ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК Сибирская опытная станция А.К. Сулейменовой за предоставленные семена сортов льна.

## Для цитирования

Истомина А.С., Савиченко Д.Л., Гучетль С.З. Анализ информативности и применимости опубликованных SSR-маркеров для паспортизации сортов масличного льна (*Linum usitatissimum* L.) российской селекции // *Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии*. 2026. № 4. С. 78-94.

---

## GENETICS, BIOTECHNOLOGY, BREEDING AND SEED PRODUCTION

---

### **Informativeness and applicability analysis of published SSR markers for the certification of oil flax (*Linum usitatissimum* L.) varieties of Russian breeding**

**Alena S. Istomina, Dmitrii L. Savichenko, Saida Z. Guchetl<sup>✉</sup>**

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

<sup>✉</sup>**Corresponding author:** [saida.guchetl@mail.ru](mailto:saida.guchetl@mail.ru)

## Abstract

Oil flax is an agricultural crop whose oil is a valuable source of polyunsaturated fatty acids. Currently, the issue of molecular genetic certification of agricultural plants in the Russian Federation, including flax, is of high importance. Existing methodologies have several drawbacks, necessitating the search for new highly informative DNA markers. The aims of the study were in silico and experimental verification of microsatellite (SSR) markers from published sources, assessment of their polymorphism and informativeness for selecting candidates to be included in a DNA marker panel for multiplex PCR and for developing genetic passports for flax varieties, as well as determination of intravarietal polymorphism in flax varieties to assess the feasibility of their reliable certification and subsequent identification. To select optimal microsatellite (SSR) markers, a bioinformatic analysis of over 1,300 nucleotide microsatellite sequences from published sources was performed. The selection criteria included: a 3–6 nucleotide motif, in silico amplification specificity, and primer annealing temperature. As a result of preliminary screening, 63 markers were selected. Experimental testing on seven oil flax varieties bred at V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops allowed the identification of 27 promising loci. Further validation on an extended panel of 23 varieties showed that most markers exhibited moderate or low discriminatory potential (PIC values ranging from 0.08 to 0.46). The exception was four highly polymorphic SSR loci: KY326304, KY326942, KY326968, and Lu2332 (PIC > 0.5), which are recommended for inclusion in the final marker panel for genetic passport development. Analysis of intravarietal polymorphism, examined on small samples using 27 markers, revealed its low level (mean values: Na = 1.27; Ne = 1.19; I = 0.15) confirming the feasibility of molecular genetic identification of flax varieties. To develop a complete

certification methodology, further research is required to design new informative SSR markers using modern bioinformatic approaches and genomic library data analysis.

### Keywords

oil flax, *Linum usitatissimum*, SSR markers, varieties, primers, alleles, certification

### Acknowledgments

The research was carried out within the framework of the state assignment FGRU-2024-0005 “Development and validation of molecular genetic marker systems for breeding-valuable traits and genotyping of oil crops”.

The authors express their gratitude to L.G. Ryabenko, Head of the Oil Flax Breeding Laboratory of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops; T.N. Luchkina, Head of the Laboratory of Small-Seeded Oil Crops of Don Experimental Station named after L.A. Zhdanov, a branch of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops; and A.K. Suleimenova, Head of the Laboratory of Oil Flax Breeding and Seed Production of Siberian Experimental Station, a branch of V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops, for providing the flax variety seed samples.

### For citation

Istomina A.S., Savichenko D.L., Guchetl S.Z. Informativeness and applicability analysis of published SSR markers for the certification of oil flax (*Linum usitatissimum* L.) varieties of Russian breeding. *Izvestiya of Timiryazev Agricultural Academy*. 2026;(4):77-94.

## Введение Introduction

Лен как сельскохозяйственная культура известен человечеству еще с VI в. до н.э. Упоминания о возделывании льна в России встречаются в летописях X и XI вв. Его культивировали как для текстильных, так и для продовольственных целей. В начале XIX вв. посевы масличного льна стали активно расширяться на юге России. В конце XIX в. льняная пряжа и льняное семя стали основными статьями русского импорта [1]. Размеры посевных площадей льна менялись с течением времени в сторону как увеличения, так и уменьшения. Сейчас льноводство стало более популярным среди отечественных фермеров. При этом большим спросом (по сравнению с текстильным льном) пользуется селекция масличного льна. Посевные площади масличного льна в России в 2024 г., по данным Росстата, находились на отметках в 1 669,9 тыс. га, что на 18,4% больше, чем в 2023 г., когда наблюдалось их снижение ввиду переизбытка семян в 2022 г. Однако за последние 4 года площади возделывания этой культуры сильно увеличились и превышают суммарные площади предыдущих 15 лет. Валовые сборы семян за 2024 г. составили 1 346,3 тыс. т, что является вторым по объему результатом за всю историю возделывания культуры [2].

Семена льна обладают высоким уровнем полиненасыщенных жирных кислот, богаты белком, содержат большой процент пищевых волокон (до 28% на сухую массу цельных семян). Это наиболее богатый в растительном мире источник лигнинов, обладающий высокой биологической ценностью [3]. Продукты переработки масличного льна – такие, как шрот и жмых, используют в качестве источника белка в кормах, предназначенных для сельскохозяйственных животных. Полимеры  $\alpha$ -линоленовой кислоты, которой богато льняное масло, используются в процессе производства линолеума, красок и других отделочных материалов [4].

На 2023 г. в реестре Госсорткомиссии Российской Федерации зарегистрировано 55 сортов масличного льна. Идентификация льна по морфологическим признакам

представляет собой сложную задачу в связи с малой морфологической вариабельностью этого растения. Вспомогательной технологией у селекционеров может быть использование ДНК-маркеров – в частности, микросателлитных (SSR – Simple Sequence Repeats), успешно используемых для многих других сельскохозяйственных растений [5, 6]. SSR представляют собой короткие tandemные повторы нуклеотидных мотивов (1–6 п.н.), широко распространенных в эукариотических геномах, в том числе у льна. Эффективные SSR маркеры позволяют детектировать различия в размере ампликонов, которые возникают внутри вида благодаря различному количеству повторов в целевом локусе. По причине распространенности в геноме, воспроизводимости результатов и кодоминантной природе наследования SSR подходят для исследований генетического разнообразия и различий между сортами сельскохозяйственных культур [7, 8]. Поскольку в последние годы активно развиваются технологии, упрощающие анализ геномов – такие, как высокопроизводительное секвенирование нового поколения, темпы исследования различных культур, и льна в том числе, сильно возросли [9]. Учеными, занимающимися селекцией льна, обнаружено более 1700 микросателлитных последовательностей в относительно небольшом геноме льна, составляющем всего 306–370 Мб, в то время как, например, у подсолнечника (*Helianthus annuus* L.) этот показатель составляет около 3 Gb [10, 11]. В данное время есть много исследований, направленных на разработку маркерных систем, основанных на микросателлитных последовательностях в геноме льна. В дальнейшем данные маркерные системы планируются к использованию для идентификации сортов, контроля их чистоты, а также отбора необходимых признаков этой культуры [12, 13]. Так, исследователи из Харбина (Китай) проанализировали геном льна и обнаружили более 1500 возможных SSR локусов, после чего отобрали 62 наиболее перспективных, на их взгляд, маркера и апробировали на 48 сортах льна. Полученные результаты помогли подразделить исследованные сорта льна на группы масличных и прядильных. Кроме того, ими планируется использование этих маркеров для дальнейшего картирования и генетического анализа [14]. Ученые из ФНЦ лубяных культур разработали и апробировали систему из 11 SSR маркеров на 82 сортах льна разного происхождения, составили их генетические паспорта [15]. Однако используемые для этих целей микросателлитные локусы состоят в основном из динуклеотидных повторов, что затрудняет интерпретацию и может привести к ошибкам при сравнительном анализе амплифицированных фрагментов, в особенности по причине эффекта аденилирования. Сейчас вопрос паспортизации сельскохозяйственных растений в РФ стоит особо остро в связи с Законом «О семеноводстве» от 30 декабря 2021 г. № 454-ФЗ. В ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК проводятся исследования по подбору SSR маркеров, позволяющих паспортизировать сорта масличного льна. Разрабатывается система микросателлитных маркеров для генотипирования сортов масличного льна для их анализа методом электрофореза в полиакриламидном геле [16–18]. Однако для массового анализа необходима оптимизация технологии генетической паспортизации и идентификации сортов масличного льна на основе мультиплексной системы маркеров микросателлитных локусов ДНК. Наиболее оптимальной технологией сегодня является высокопроизводительный метод детекции результатов ПЦР при помощи капиллярного гель-электрофореза. Для этого требуются подбор подходящих маркеров и их сочетание в мультиплексных системах.

**Цель исследований:** *in silico* и экспериментальная проверка микросателлитных (SSR) маркеров из источников литературы, оценка их полиморфизма и информативности для поиска кандидатов для включения в панель ДНК-маркеров для мультиплексной ПЦР и разработки генетических паспортов сортов льна отечественной селекции.

Дополнительная цель исследований – определение внутрисортowego полиморфизма сортов льна для оценки возможности их надежной паспортизации и дальнейшей идентификации.

### **Методика исследований**

#### **Research method**

Для исследований использованы 23 сорта масличного льна селекции ВНИИМК: Бирюза, Нилин, Даник, ФЛИЗ, Снегурок, Ы 117, Ы 220 ВНИИМК 620, ВНИИМК 620 ФН, ВНИИМК 630 и РФН селекции центральной экспериментальной базы ВНИИМК (ЦЭБ ВНИИМК); сорта Август, Северный, Сапфир, Исилькульский, Амбер, Сания, Легур и Сокол селекции Сибирской опытной станции ВНИИМК (СОС ВНИИМК); сорта Авангард, Радуга, Светлячок и Небесный селекции Донской опытной станции ВНИИМК (ДОС ВНИИМК). Несмотря на то, что в работе использованы только сорта коллекции ВНИИМК, они создаются в контрастных экологических условиях и представляют собой разнородный генетический материал. Для анализа праймерных пар использовались последовательность генома масличного льна, размещенная на сайте NCBI (геномная сборка ASM1066527v2; longya 10; Gansu Academy of Agricultural Sciences, 2021), программное обеспечение FastPCR (PrimerDigital Ltd. <http://primerdigital.com/fastpcr.html>) [19] и UGENE (Унипро <http://ugene.net>) [20]. Выделение ДНК проводили из 115 индивидуальных семян (по 5 семян 23 сортов) при помощи станции для автоматического выделения, очистки нуклеиновых кислот из биологического материала Auto-Pure 96 (Allsheng, Китай) и наборов Магно-Прайм ФИТО (НекстБио, Россия). В исследованиях использованы праймерные пары из источников литературы [10, 12, 15, 21], синтезированные компанией ООО «Синтол» (РФ) и меченные флуоресцентными метками. Состав реакционной смеси объемом 25 мкл для полимеразной цепной реакции (ПЦР): 1×ПЦР-Буфера-Б для Taq ДНК-полимеразы; 2,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 0,2 mM каждого dNTP; по 10 пМ каждого праймера; 20–30 нг матричной ДНК и 1 ед.а. SynTaq ДНК-полимеразы (Синтол, РФ). ПЦР проводили в термоциклере MiniAmp Plus (Thermo Fisher Scientific, США) при следующих условиях: начальная денатурация – при 96°C в течение 90 с; затем 35 циклов при соблюдении температурно-временного режима: 94°C в течение 30 с; 60°C в течение 40 с, 70°C в течение 60 с; финальная элонгация при 70°C в течение 360 с. Для детекции результатов использован капиллярный электрофорез в генетическом анализаторе НАНОФОР 05 (полимер ПДМА-4, размерный стандарт СД-600 (Синтол, РФ)). Полученные данные обработаны в программе GeneMarker V3.0.1 (SoftGenetics, США), подсчитывающей размер амплифицированного фрагмента. Для анализа статистических данных: общего и среднего эффективного числа аллелей (Ne), общей ожидаемой гетерозиготности (He), общего и среднего индекса полиморфного информационного содержания (PIC), среднего значения информационного индекса Шеннона (I), частоты аллелей на локус, количества уникальных аллелей и процента полиморфных локусов (%P) – использовались программное обеспечение GenAlEx 6.5 [22] и R версии 4.2.2 [23].

### **Результаты и их обсуждение**

#### **Results and discussion**

Для отбора эффективных SSR-маркеров проанализированы исследования китайских, российских и канадских ученых [10, 12, 15, 21]. Ранее был опубликован ряд статей, где предлагались оптимальные критерии для отбора микросателлитных

последовательностей. Например, рекомендован отбор четырехбуквенных и более длинных SSR-повторов, поскольку двухбуквенные чаще подвержены «заиканию» («проскальзыванию») во время ПЦР, что затрудняет различение гомозигот и гетерозигот. Трехбуквенные повторы чаще встраиваются внутрь гена, так как не сдвигают рамку считывания, и находятся под отбором [24]. Однако у многих видов динуклеотидные и тринуклеотидные повторы встречаются чаще, чем другие [25]. В связи с этим было принято решение отбирать и тринуклеотидные мотивы, которые находились в межгенных областях. В наших исследованиях проведен поиск микросателлитных последовательностей, которые отвечали следующим критериям: 3–6 нуклеотидный мотив; при *in silico* ПЦР дают только один ампликон одного участка генома. В анализированных источниках литературы 5–6 нуклеотидные микросателлиты начинались в основном от 4 повторов [21]. Для 3–4 нуклеотидных микросателлитов поиск начинали от 7 повторов, исходя из того, что чем длиннее микросателлит, тем выше частота мутаций и, следовательно, больше потенциальный полиморфизм [26, 27]. Мультиплексная ПЦР позволяет сократить финансовые затраты и время анализа, поэтому одним из критериев отбора была сходная температура отжига праймеров в градиенте 57–63°C.

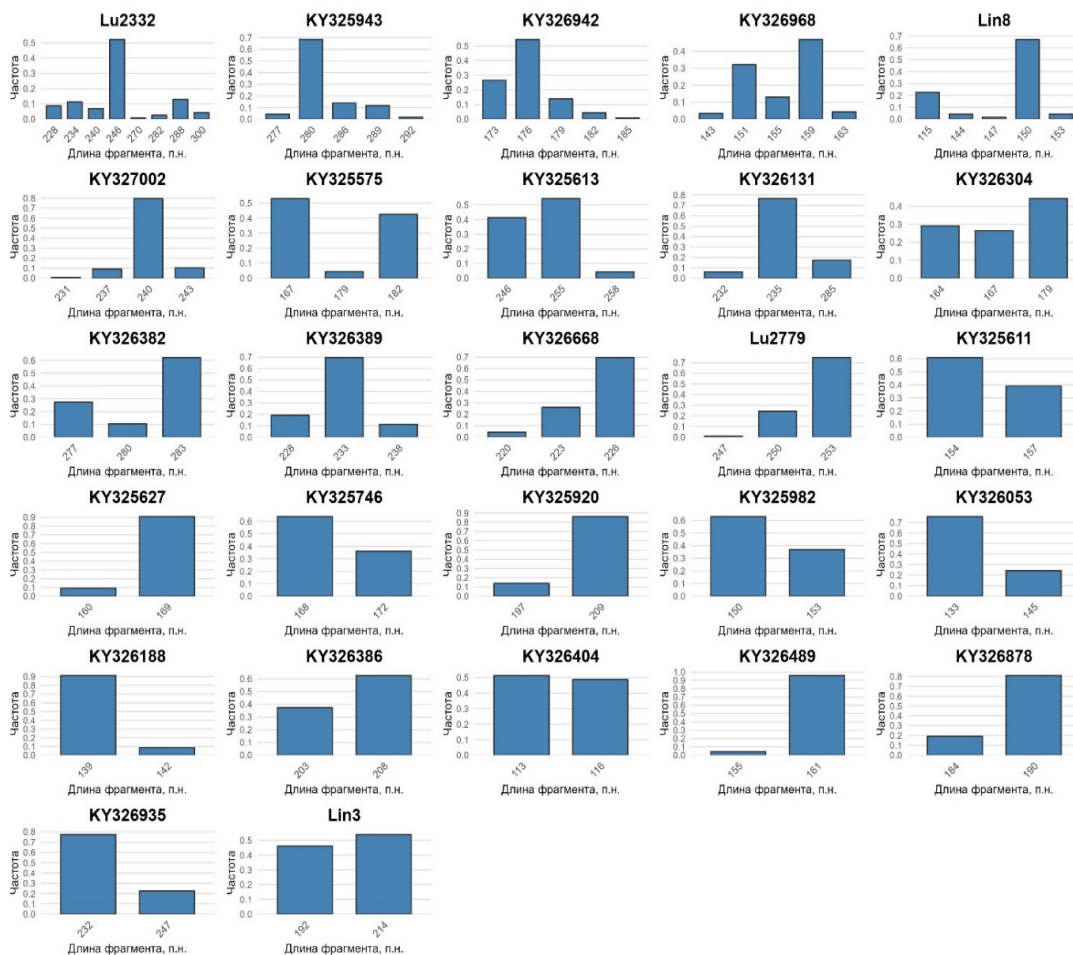
Для создания в дальнейшем мультиплексной системы маркеров проведен биоинформатический анализ более 1300 нуклеотидных последовательностей. В итоге скрининга отобрано 63 из них.

На первом этапе апробацию 63 маркеров провели на 7 растениях 7 сортов масличного льна Снегурок, Северный, Ы-117, Даник, Нилин, Август и Светлячок. Не выявили полиморфизма среди изученных образцов 27 маркеров, 7 показали неспецифичную амплификацию. Таким образом, для дальнейшей валидации отобрали 29 маркеров, а выборка анализируемых растений была увеличена до 115 растений (по 5 индивидуальных растений 23 сортов льна). На этом этапе исключено еще 2 маркера ввиду сложности интерпретации результатов электрофореза продуктов амплификации. Из 27 оставшихся микросателлитных маркерных последовательностей большинство (20) были представлены тринуклеотидными повторами, в то время как тетра- и пентануклеотидные мотивы встречались реже (по 7 маркеров каждого типа), и лишь один маркер содержал гексануклеотидный повтор.

Отобранные маркерные последовательности покрывали 13 из 15 хромосом генома. Наибольшая плотность маркеров была отмечена на хромосомах 1 и 13, где локализовалось по 4 локуса.

В исследуемой выборке растений в общей сложности обнаружено 82 аллеля, частоты встречаемости которых представлены на рисунке.

Минимальный размер аллеля составил 115 пар нуклеотидов (п.н.), а максимальный – 300 п.н. Наибольшее число аллельных вариантов (8) обнаружено у локуса Lu2332 с ярко выраженным преобладающим аллелем 246 п.н. Он зафиксирован у 53% анализируемых растений. По 5 аллельных вариантов выявлено у маркеров KY325943, KY326942, Lin8 и KY326968 с доминированием аллелей 280 п.н., 159 п.н., 150 п.н., 159 п.н. соответственно. У маркера KY326968 зафиксировано два преобладающих аллеля, 151 п.н. и 159 п.н., с частотой встречаемости 33 и 47% соответственно. Обнаружено 4 аллеля у маркера KY327002. Среди них у 80% растений выявлен аллель 240 п.н. Локусы с 3 аллельными вариантами встречались в 29% случаев. У большинства локусов обнаружено по 2 аллеля (48%). Хороший баланс между обнаруженными аллелями показали локусы KY325575, KY325611, KY325613, KY325746, KY325982, KY326304, KY326386, KY326404 и Lin3, для которых выявлены минимум 2 аллеля с высокой и сопоставимой частотой встречаемости.



**Рис.** Частота встречаемости обнаруженных аллелей 27 микросателлитных локусов среди выборки из 115 растений льна селекции ВНИИМК

**Figure.** Frequency of occurrence of detected alleles of 27 microsatellite loci among a sample of 115 oil flax plants bred at V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops

Наиболее часто гетерозиготное состояние встречалось у сортов по маркеру KY326382. По этому маркеру у анализированных растений 4 сортов (Сапфир, Амбер, Август, Даник) обнаружены только гетерозиготные растения, идентичные по размеру амплифицированных фрагментов, что может являться следствием неспецифичной амплификации и требует проверки на расширенной выборке растений каждого сорта несмотря на то, что у 3 сортов (Ы 220, Радуга, Сания) часть образцов по данному локусу представлена гетерозиготами. Среди оставшихся маркеров частота выявления гетерозигот составила около 0,3%. Такая низкая степень гетерозиготности может быть объяснена тем, что лен масличный является самоопылителем, и зачастую на момент открытия бутона оплодотворение в нем уже произошло. Степень перекрестного опыления у растений этого вида довольно низкая (до 1%), в единичных случаях – до 5% [29].

Для оценки эффективности маркеров генетические показатели рассчитывались как для совокупности растений в качестве одной популяции, так и отдельно по сортам с выборкой 5 растений (табл. 1).

Таблица 1

**Показатели информативности 27 микросателлитных локусов,  
исследованных на выборке из 115 растений масличного льна**

Table 1

**Informative indices of 27 microsatellite loci studied on a sample of 115 oil flax plants**

| Локус    | Мотив    | Общие по локусам |                |      | Средние по сортам |      |
|----------|----------|------------------|----------------|------|-------------------|------|
|          |          | H <sub>e</sub>   | N <sub>e</sub> | PIC  | N <sub>e</sub>    | PIC  |
| KY325575 | (AAT)    | 0,54             | 2,15           | 0,46 | 1,12              | 0,07 |
| KY325611 | (GTT)    | 0,48             | 1,91           | 0,42 | 1,12              | 0,06 |
| KY325613 | (ATT)    | 0,53             | 2,12           | 0,46 | 1,17              | 0,08 |
| KY325627 | (ATA)    | 0,17             | 1,12           | 0,16 | 1,10              | 0,05 |
| KY325746 | (AGGT)   | 0,46             | 1,86           | 0,41 | 1,17              | 0,07 |
| KY325920 | (GACCTG) | 0,24             | 1,32           | 0,23 | 1,18              | 0,10 |
| KY325943 | (AGT)    | 0,50             | 1,99           | 0,44 | 1,14              | 0,07 |
| KY325982 | (AAG)    | 0,47             | 1,87           | 0,41 | 1,29              | 0,14 |
| KY326053 | (CTT)    | 0,37             | 1,58           | 0,33 | 1,10              | 0,06 |
| KY326131 | (TAA)    | 0,38             | 1,61           | 0,34 | 1,04              | 0,02 |
| KY326188 | (CAGTC)  | 0,16             | 1,19           | 0,15 | 1,00              | 0,00 |
| KY326304 | (TCT)    | 0,65             | 2,84           | 0,54 | 1,24              | 0,12 |
| KY326382 | (AAT)    | 0,53             | 2,12           | 0,46 | 1,37              | 0,19 |
| KY326386 | (GGTGA)  | 0,47             | 1,88           | 0,41 | 1,30              | 0,14 |
| KY326389 | (TTTTG)  | 0,47             | 1,88           | 0,41 | 1,24              | 0,12 |
| KY326404 | (TTA)    | 0,49             | 1,99           | 0,38 | 1,26              | 0,15 |
| KY326489 | (CGA)    | 0,08             | 1,00           | 0,08 | 1,00              | 0,00 |
| KY326668 | (TTC)    | 0,45             | 1,81           | 0,40 | 1,20              | 0,10 |
| KY326878 | (GAA)    | 0,31             | 1,45           | 0,29 | 1,16              | 0,09 |
| KY326935 | (CAT)    | 0,35             | 1,54           | 0,32 | 1,16              | 0,10 |
| KY326942 | (TAT)    | 0,61             | 2,58           | 0,52 | 1,29              | 0,13 |

| Локус    | Мотив        | Общие по локусам |       |      | Средние по сортам |      |
|----------|--------------|------------------|-------|------|-------------------|------|
|          |              | $H_e$            | $N_e$ | PIC  | $N_e$             | PIC  |
| KY326968 | (CTTT)       | 0,66             | 2,91  | 0,55 | 1,34              | 0,16 |
| KY327002 | (ATT)        | 0,35             | 1,53  | 0,32 | 1,07              | 0,04 |
| Lin3     | (GAA)        | 0,50             | 1,99  | 0,44 | 1,22              | 0,10 |
| Lin8     | (TCT)TG(TTC) | 0,50             | 1,99  | 0,44 | 1,29              | 0,13 |
| Lu2332   | (TAGGAT)     | 0,68             | 3,15  | 0,57 | 1,24              | 0,12 |
| Lu2779   | (ATT)        | 0,38             | 1,62  | 0,35 | 1,16              | 0,08 |
| Среднее  |              | 0,44             | 1,93  | 0,38 | 1,18              | 0,09 |

Первый подход отражает изменчивость маркеров по сортам, хотя и способен как занижать оценки в случае отсутствия внутрисортного полиморфизма, так и завышать при его наличии. Второй подход позволил зафиксировать наличие и приблизительный уровень внутрисортного полиморфизма на малой выборке. Индивидуальный анализ растений, в отличие от смесей ДНК нескольких растений, исключает артефакты в виде искусственной гетерозиготности, что особенно значимо для самоопыляющихся культур, к которым относится масличный лен.

Значения показателей ожидаемой гетерозиготности  $H_e$ , эффективного числа аллелей  $N_e$  и индекса полиморфного информационного содержания PIC по всем растениям были минимальными по локусу KY326489 и составили 0,08; 1,00; 0,08 соответственно. По этому маркеру почти весь исследованный материал был мономорфным, и только у сорта Снегурок определен альтернативный аллель. Данный маркер демонстрирует низкий уровень полиморфизма на анализированных сортах, что делает его дальнейшее применение нецелесообразным. Максимальные значения показателей общих  $H_e$ ,  $N_e$  и PIC наблюдались для маркера Lu2332 и составили 0,68; 3,15; 0,57 соответственно, причем  $N_e$  только этого маркера превысило значение 3. В среднем общие значения  $H_e$  среди 27 апробированных маркеров составили: 0,435;  $N_e$  – 1,895; PIC – 0,38.

Главное преимущество SSR-маркеров перед SNP заключается в количестве аллелей, которое обеспечивает большую информативность на один маркер. Таким образом, для SNP максимальное значение индекса полиморфного информационного содержания (PIC) достигается при равной частоте аллелей в популяции и равняется 0,5 [30]. Это же относится и к SSR-маркерам с двумя аллелями, поэтому включение таких маркеров в систему нежелательно, особенно при дисбалансе частот встречаемости. Среди изученных маркеров только KY326304, KY326942, KY326968 и Lu2332 имели значение PIC > 0,5. Данные маркеры могут быть рекомендованы для приоритетного включения в систему SSR-маркеров для создания генетических паспортов сортов масличного льна. Остальные маркеры характеризовались значениями PIC в диапазоне от 0,08 до 0,46, составив в среднем 0,38, что указывает на недостаточную практическую ценность для включения в мультиплексную систему.

Таким образом, необходим дальнейший поиск высокоинформативных SSR-маркеров, тогда как маркеры со значениями PIC  $\approx 0,5$  могут рассматриваться в качестве резервных. Несмотря на использование в исследованиях только селекционного материала ФНЦ ВНИИМК, что, несомненно, сказывается на генетическом разнообразии, разрабатываемая система SSR-маркеров должна обладать достаточным дискриминационным потенциалом в таких условиях. В противном случае подобная система не будет способна отличать все селекционные достижения, что не согласуется с целью генетической паспортизации.

Среднее эффективное число аллелей и средний PIC по сортам отобразили средневзвешенное значение, вычисленное сначала внутри каждого сорта, а после – усредненное по каждому маркеру. Среднее значение  $N_e$  по сортам составило 1,18, а средний PIC – 0,09. Эти показатели демонстрируют довольно низкую внутрисортную изменчивость использованных в исследовании сортов льна. По маркерам KY326489 и KY326188 показано нулевое значение PIC, так как эти маркеры выявляли второй аллель только у одного и двух сортов соответственно, причем у всех 5 анализируемых растений. Наличие уникальных аллелей может быть полезным для узких задач идентификации конкретного сорта, но неприменимо для идентификации большого количества сортов с ограниченной генетической базой. Наибольшее средневзвешенное значение  $N_e$  по сортам выявили для локусов KY326382 (1,37) и KY326968 (1,34). По данным маркерам зафиксирована наибольшая вариабельность аллелей внутри каждого сорта. Эти данные свидетельствуют о наличии внутрисортного полиморфизма масличного льна, которое необходимо учитывать при паспортизации.

Внутрисортной полиморфизм 23 сортов льна масличного селекции ВНИИМК на основе изучения 27 микросателлитных маркеров на 5 растениях охарактеризован по числу полиморфных локусов, средним величинам значений  $N_a$ ,  $N_e$ , I и числу уникальных аллелей (табл. 2).

Таблица 2

**Показатели информативности 27 SSR-маркеров  
по 23 сортам масличного льна селекции ВНИИМК**

Table 2

**Informative indices of 27 SSR markers across 23 oil flax varieties bred  
at V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops**

| Сорт   | Число полиморфных локусов | Среднее по каждому сорту |       |      |                          |
|--------|---------------------------|--------------------------|-------|------|--------------------------|
|        |                           | $N_a$                    | $N_e$ | I    | число уникальных аллелей |
| Бирюза | 9                         | 1,37                     | 1,20  | 0,19 | 0                        |
| Август | 2                         | 1,07                     | 1,07  | 0,05 | 0                        |
| Нилин  | 10                        | 1,37                     | 1,21  | 0,20 | 2                        |
| Даник  | 11                        | 1,41                     | 1,28  | 0,24 | 0                        |
| Сапфир | 2                         | 1,07                     | 1,07  | 0,05 | 0                        |
| ФЛИЗ   | 13                        | 1,52                     | 1,40  | 0,31 | 0                        |

| Сорт          | Число полиморфных локусов | Среднее по каждому сорту |                |      |                          |
|---------------|---------------------------|--------------------------|----------------|------|--------------------------|
|               |                           | N <sub>a</sub>           | n <sub>e</sub> | I    | число уникальных аллелей |
| Снегурок      | 0                         | 1,00                     | 1,00           | 0,00 | 8                        |
| Ы 117         | 8                         | 1,30                     | 1,23           | 0,18 | 3                        |
| Ы 220         | 5                         | 1,19                     | 1,11           | 0,10 | 0                        |
| ВНИИМК 620    | 3                         | 1,11                     | 1,07           | 0,06 | 0                        |
| ВНИИМК 620 ФН | 2                         | 1,07                     | 1,05           | 0,04 | 0                        |
| ВНИИМК 630    | 5                         | 1,19                     | 1,10           | 0,10 | 1                        |
| Амбер         | 1                         | 1,04                     | 1,04           | 0,03 | 0                        |
| РФН           | 5                         | 1,19                     | 1,10           | 0,10 | 0                        |
| Сания         | 13                        | 1,59                     | 1,29           | 0,28 | 0                        |
| Небесный      | 18                        | 1,74                     | 1,54           | 0,43 | 1                        |
| Легур         | 11                        | 1,44                     | 1,36           | 0,27 | 0                        |
| Авангард      | 9                         | 1,33                     | 1,31           | 0,22 | 0                        |
| Сокол         | 2                         | 1,07                     | 1,07           | 0,05 | 0                        |
| Радуга        | 17                        | 1,67                     | 1,37           | 0,34 | 2                        |
| Светлячок     | 12                        | 1,44                     | 1,31           | 0,26 | 0                        |
| Северный      | 4                         | 1,15                     | 1,07           | 0,07 | 0                        |
| Исилькульский | 0                         | 1,00                     | 1,00           | 0,00 | 0                        |
| Среднее       | 7                         | 1,27                     | 1,19           | 0,15 |                          |
| Медиана       | 5                         | 1,19                     | 1,11           | 0,10 |                          |

Среди обнаруженных 82 аллелей было 17 уникальных, выявленных у всех исследованных растений только одного сорта. Наибольшее число уникальных аллелей (8) обнаружено у сорта Снегурок. Он отличается от остальных по холодоустойчивости, и на данный момент это единственный в России сорт масличного льна, пригодный для посева в осенний период [30]. Все 5 анализированных растений этого сорта идентичны по всем маркерам, что также согласуется с результатами наших предыдущих исследований. Так, из 49 индивидуальных растений типичными и идентичными были 94%, что позволило говорить о сорте как о линейном [16]. Также в текущих исследованиях гомогенность по 27 маркерам проявил сорт Исилькульский.

Низкое число полиморфных локусов наблюдали у сортов Амбер, Август, Сапфир, Сокол, ВНИИМК 620ФН, ВНИИМК 620, для которых зафиксирована гетерогенность по 1–3 маркерам. Наиболее гетерогенными по исследуемым локусам были такие сорта, как Радуга и Небесный, для которых выявлено различие по 17 и 18 маркерам соответственно. Возможно, эти сорта будут показывать высокую степень адаптивности к условиям окружающей среды благодаря большому разнообразию вариантов внутри популяции. Так, показано, что сорт Небесный следует отнести к высокомасличным и отзывчивым на условия окружающей среды, однако обладающим низкой стабильностью [31]. А в экологических испытаниях нескольких сортов льна в условиях Ростовской области отмечена генетическая пластичность и стрессоустойчивость сортов Небесный и Радуга [32]. Средний внутрисортной полиморфизм по числу полиморфных локусов составил 7 из 27 с медианным значением 5.

Таким образом, большинство сортов селекции ВНИИМК имеют внутрисортной полиморфизм, который наблюдается даже на малой выборке. Внутрисортное разнообразие достаточно низкое, что подтверждают невысокие значения индекса Шеннона. Максимальное значение индекса (0,43) отмечено у сорта Небесный. В среднем по всем изученным сортам данный показатель составил 0,15, медиана – 0,10 (табл. 2), что свидетельствует о возможности их надежной генетической идентификации. Для получения более полных и статистически значимых данных в дальнейших исследованиях планируется изучение большего количества растений каждого сорта с использованием отобранных молекулярных маркеров.

Проведенный анализ 1300 опубликованных SSR-маркеров, направленный на оценку их пригодности для молекулярного генотипирования сортов масличного льна российской селекции, показал, что лишь незначительная часть маркеров продемонстрировала характеристики, необходимые для эффективной паспортизации с применением мультиплексной ПЦР. Высокий дискриминационный потенциал был подтвержден только для 4 маркеров, в то время как остальные локусы обладали умеренным полиморфизмом, что делает малоперспективным их дальнейшее использование для идентификации сортов. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки новых высокоинформативных SSR-маркеров с привлечением современных биоинформатических подходов и анализа данных геномных библиотек.

## **Выводы**

## **Conclusions**

В результате биоинформатического анализа 1300 микросателлитных локусов льна, описанных в литературе, по заданным критериям было отобрано 63 маркера. С помощью экспериментальной проверки на 7 сортах масличного льна селекции ВНИИМК идентифицировано 27 перспективных локусов. Дальнейшая их валидация на расширенной панели из 23 сортов показала, что большинство маркеров обладают умеренным или низким дискриминационным потенциалом (PIC – от 0,08 до 0,46). Исключение составили 4 высокополиморфных SSR-локуса: KY326304, KY326942, KY326968 и Lu2332 (PIC > 0,5), которые рекомендуются для включения в итоговую панель маркеров для создания генетических паспортов. Анализ внутрисортного полиморфизма, исследованный на малых выборках с помощью 27 маркеров, выявил его низкий уровень (средние значения: Na = 1,27; Ne = 1,19; I = 0,15). Это подтверждает возможность молекулярно-генетической идентификации сортов льна.

## Список источников

1. Зеленцов С.В. История культуры льна в мире и России // *Масличные культуры*. 2017. № 1 (169). С. 93-103. EDN: YPWNPP
2. Сборы масличного льна в России в 2024 году выросли на 16,8%. URL: <https://ab-centre.ru/news/> (дата обращения: 01.07.2025).
3. Parikh M., Maddaford T.G., Austria J.A., Aliani M. et al. Dietary flaxseed as a Strategy for Improving Human Health. *Nutrients*. 2019;11(5):1171. <https://doi.org/10.3390/nu11051171>
4. Захарчук Д.Д., Болтовский В.С. Комплексная переработка льна с получением инновационной продукции // *Труды БГТУ. Серия 2 «Химические технологии, биотехнологии, геоэкология»*. 2024. № 2 (283). С. 77-91. <https://doi.org/10.52065/2520-2669-2024-283-10>
5. Carvalho M., Matos M., Crespi A., Lopes V.R. et al. Genetic Diversity and Identification of Vaccinium Species Through Microsatellite Analysis. *Plants*. 2024;13(24):3488. <https://doi.org/10.3390/plants13243488>
6. Savadi S., Mohan G., Manoj K., Manuel M. et al. Microsatellite Markers Development and Molecular Fingerprinting of Cashew Cultivars. *Mol Biol Rep*. 2024;84(1):28-42. <https://doi.org/10.1007/s11033-024-10131-5>
7. Канукова К.Р., Газаев И.Х., Сабанчиева Л.К., Боготова З.И. и др. ДНК-маркеры в растениеводстве // *Известия КБНЦ РАН*. 2019. № 6 (92). С. 220-232. <https://doi.org/10.35330/1991-6639-2019-6-92-220-232>
8. Temnykh S., DeClerck G., Lukashova A., Lipovich L. et al. Computational and Experimental Analysis of Microsatellites in Rice (*Oryza sativa* L.): Frequency, Length Variation, Transposon Associations, and Genetic Marker Potential. *Genome Research*. 2001;11(8):1441-1452. <https://doi.org/10.1101/gr.184001>
9. Ахметшина А.О., Стрыгина К.В., Хлесткина Е.К., Пороховинова Е.А. и др. Высокопроизводительное секвенирование в генетике и селекции льна // *Экологическая генетика*. 2020. № 18 (1). С. 103-124. <https://doi.org/10.17816/ecogen16126>
10. Cloutier S., Miranda E., Ward K., Radovanovic N. et al. Simple Sequence Repeat Marker Development from Bacterial Artificial Chromosome end Sequences and Expressed Sequence Tags of Flax (*Linum usitatissimum* L.). *Theor. and Appl. Genet*. 2012;125(4):685-694. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1860-4>
11. Zhang J., Qi Y., Wang L., Wang L. et al. Genomic Comparison and Population Diversity Analysis Provide Insights into the Domestication and Improvement of Flax. *iScience*. 2020;23(4):100967. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.100967>
12. Pan G., Chen A., Li J., Huang S. et al. Genome-Wide Development of Simple Sequence Repeats Database for Flax (*Linum usitatissimum* L.) and its Use for Genetic Diversity Assessment. *Genet. Res. and Crop Evol*. 2020;67:865-874. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00882-y>
13. Sandip M.K., Varsha C.P., Narendra Y.K., Prakash B.G. et al. Development of Genomic Simple Sequence Repeat Markers for Linseed Using Next Generation Sequencing Technology. *Molecular Breeding*. 2012;30:597-606. <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9648-9>
14. Deng X., Long S., He D., Li X. et al. Development and Characterization of Polymorphic Microsatellite Markers in *Linum usitatissimum*. *Journal of Plant Research*. 2010;123:119-123. <https://doi.org/10.1007/s10265-009-0271-3>
15. Базанов Т.А., Ушаповский И.В., Логинова Н.Н., Смирнова Е.В. и др. Молекулярно-генетическое разнообразие сортов льна (*Linum usitatissimum* L.), представленных в Госреестре селекционных достижений Российской Федерации // *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2023. Т. 184, № 1. С. 163-176. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-1-163-176>

16. 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. Т. 23, № 2. С. 184-193. <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.2.184-193>
17. Челюстникова Т.А., Аверина А.А., Гучетль С.З., Золотавина М.Л. и др. Оптимизация маркерной системы для генотипирования сортов льна масличного коллекции ВНИИМК // *Аграрная наука*. 2022. № 4. С. 57-61. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-358-4-57-61>
18. 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. № 2 (178). С. 6-41. <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-2-178-41-46>
19. Kalendar R., Tselykh T.V., Khassenov B., Ramanculov E.M. Introduction on Using the Fastpcr Software and the Related Java Web Tools for PCR and Oligonucleotide Assembly and Analysis. *PCR: Methods and Protocols*. 2017:33-64. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7060-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7060-5_2)
20. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 2012;28(8):1166-1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
21. Wu J., Zhao Q., Wu G., Zhang S. et al. Development of Novel SSR Markers for Flax (*Linum usitatissimum* L.) Using Reduced-Representation Genome Sequencing. *Frontiers in Plant Science*. 2017;7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02018>
22. 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>
23. Программная среда R для статистических вычислений и графики. URL: <https://www.r-project.org> (дата обращения: 01.10.2025).
24. Галинская Т.В., Щепетов Д.М., Лысенков С.Н. Предубеждения о микросателлитных исследованиях и как им противостоять // *Генетика*. 2019. Т. 55 (6). С. 617-632. <https://doi.org/10.1134/S0016675819060043>
25. Taheri S., Abdullah L.T., Yusop M.R., Hanafi M.M. 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>
26. Verbiest M., Maksimov M., Jin Y., Anisimova M. et al. Mutation and Selection Processes Regulating Short Tandem Repeats Give Rise to Genetic and Phenotypic Diversity Across Species. *Journal of Evolutionary Biology*. 2023;36(2):321-336. <https://doi.org/10.1111/jeb.14106>
27. Гучетль С.З., Головатская А.В., Савиченко Д.Л., Логинова Е.Д. и др. Разработка высокоинформативных микросателлитных маркеров для генетического анализа подсолнечника // *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2025. Т. 186. № 4. С. 142-154. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-4-142-154>
28. Зеленцов С.В., Мошненко Е.В., Рябенко Л.Г., Овчарова Л.Р. Типы и способы естественного опыления льна обыкновенного *Linum usitatissimum* L. // *Масличные культуры*. 2018. № 1 (173). С. 105-113. <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2018-1-173-105-113>
29. Brookes A.J. The essence of SNPs. *Gene*. 1999;234(2):177-186. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00219-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00219-X)
30. Рябенко Л.Г., Зеленцов С.В., Овчарова Л.Р., Зеленцов В.С. и др. Зимующий сорт масличного льна Снегурок // *Масличные культуры*. 2020. № 4 (184). С. 99-102. <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2020-4-184-99-102>

31. Галицкий Д.Н., Шаманин В.П. Зависимость накопления масла и жирнокислотного состава от условий окружающей среды в семенах льна масличного в южной лесостепи Омской области // *Омский научный вестник*. 2014. № 2 (134). С. 169-173. EDN: TEGAEL

32. Лучкина Т.Н., Горбаченко О.Ф., Збраилова Л.П., Бушнев А.С. и др. Экологическое испытание сортов льна масличного в условиях Ростовской области // *Масличные культуры*. 2020. № 4 (184). С. 24-31. <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2020-4-184-24-31>

## References

1. Zelentsov S.V. History of flax crop in the world and Russia. *Oil Crops*. 2011;(1(169)):93-103. (In Russ.)

2. *Oilseed flax harvests in Russia increased by 16.8% in 2024*. (In Russ.) URL: <https://ab-centre.ru/news/> (accessed: July 01, 2025).

3. Parikh M., Maddaford T.G., Austria J.A., Aliani M. et al. Dietary flaxseed as a Strategy for Improving Human Health. *Nutrients*. 2019;11(5):1171. <https://doi.org/10.3390/nu11051171>

4. Zakharchuk D.D., Boltovsky V.S. Complex processing of flax with the production of innovative products. *Proceedings of BSTU. Issue 2, Chemical Engineering, Biotechnology, Polymer Materials Science*. 2024;(2(283)):77-91. (In Russ.) <https://doi.org/10.52065/2520-2669-2024-283-10>

5. Carvalho M., Matos M., Crespí A., Lopes V.R. et al. Genetic Diversity and Identification of Vaccinium Species Through Microsatellite Analysis. *Plants*. 2024;13(24):3488. <https://doi.org/10.3390/plants13243488>

6. Savadi S., Mohan G., Manoj K., Manuel M. et al. Microsatellite Markers Development and Molecular Fingerprinting of Cashew Cultivars. *Mol Biol Rep*. 2024;84(1):28-42. <https://doi.org/10.1007/s11033-024-10131-5>

7. Kanukova K.R., Gazev I.H., Sabanchieva L.K., Bogotova Z.I. et al. DNA markers in crop production. *News of the Kabardino-Balkarian Scientific Center of RAS*. 2019;(6(92)):220-232. (In Russ.) <https://doi.org/10.35330/1991-6639-2019-6-92-220-232>

8. Temnykh S., DeClerck G., Lukashova A., Lipovich L. et al. Computational and Experimental Analysis of Microsatellites in Rice (*Oryza sativa* L.): Frequency, Length Variation, Transposon Associations, and Genetic Marker Potential. *Genome Research*. 2001;11(8):1441-1452. <https://doi.org/10.1101/gr.184001>

9. Akhmetshina A.O.1, Strygina K.V.1, Khlestkina E.K.1, Porokhovinova et al. High-throughput sequencing techniques to flax genetics and breeding. *Ecological Genetics*. 2020;18(1):103-124. (In Russ.) <https://doi.org/10.17816/ecogen16126>

10. Cloutier S., Miranda E., Ward K., Radovanovic N. et al. Simple Sequence Repeat Marker Development from Bacterial Artificial Chromosome end Sequences and Expressed Sequence Tags of Flax (*Linum usitatissimum* L.). *Theor. and Appl. Genet*. 2012;125(4):685-694. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1860-4>

11. Zhang J., Qi Y., Wang L., Wang L. et al. Genomic Comparison and Population Diversity Analysis Provide Insights into the Domestication and Improvement of Flax. *iScience*. 2020;23(4):100967. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.100967>

12. Pan G., Chen A., Li J., Huang S. et al. Genome-Wide Development of Simple Sequence Repeats Database for Flax (*Linum usitatissimum* L.) and its Use for Genetic Diversity Assessment. *Genet. Res. and Crop Evol*. 2020;67:865-874. <https://doi.org/10.1007/s10722-020-00882-y>

13. Sandip M.K., Varsha C.P., Narendra Y.K., Prakash B.G. et al. Development of Genomic Simple Sequence Repeat Markers for Linseed Using

- Next Generation Sequencing Technology. *Molecular Breeding*. 2012;30:597-606. <https://doi.org/10.1007/s11032-011-9648-9>
14. Deng X., Long S., He D., Li X. et al. Development and Characterization of Polymorphic Microsatellite Markers in *Linum usitatissimum*. *Journal of Plant Research*. 2010;123:119-123. <https://doi.org/10.1007/s10265-009-0271-3>
  15. Bazanov T.A., Uschapovsky I.V., Loginova N.N., Smirnova E.V. et al. Molecular genetic diversity of flax cultivars (*Linum usitatissimum* L.) represented in the State register for selection achievements of the Russian Federation. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2023;184(1):163-176. (In Russ.) <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2023-1-163-176>
  16. Guchetl S.Z., Chelyustnikova T.A., Averina A.A. Analysis of the structure of linseed flax varieties based on polymorphic microsatellite loci. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2022;23(2):184-193. (In Russ.) <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2022.23.2.184-193>
  17. Chelyustnikova T.A., Averina A.A., Guchetl S.Z., Zolotavina M.L. et al. Optimization of marker system for genotyping oil flax varieties from the collection of VNIIMK. *Agrarian Science*. 2022;(4):57-61. (In Russ.) <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-358-4-57-61>
  18. Chelyustnikova T.A., Guchetl S.Z., Antonova T.S. 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. *Oil Crops*. 2019;(2(178)):41-46. (In Russ.) <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2019-2-178-41-46>
  19. Kalendar R., Tselykh T.V., Khassenov B., Ramanculov E.M. Introduction on Using the Fastpcr Software and the Related Java Web Tools for PCR and Oligonucleotide Assembly and Analysis. *PCR: Methods and Protocols*. 2017:33-64. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7060-5\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7060-5_2)
  20. Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 2012;28(8):1166-1167. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts091>
  21. Wu J., Zhao Q., Wu G., Zhang S. et al. Development of Novel SSR Markers for Flax (*Linum usitatissimum* L.) Using Reduced-Representation Genome Sequencing. *Frontiers in Plant Science*. 2017;7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02018>
  22. 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>
  23. Software environment for statistical computing and graphics. (In Russ.) URL: <https://www.r-project.org> (accessed: October 01, 2025).
  24. Galinskayaa T.V., Schepetova D.M., Lysenkove S.N. Prejudices against microsatellite studies and how to resist them. *Genetica*. 2019;55(6):617-632. (In Russ.) <https://doi.org/10.1134/S0016675819060043>
  25. Taheri S., Abdullah L.T., Yusop M.R., Hanafi M.M. 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>
  26. Verbiest M., Maksimov M., Jin Y., Anisimova M. et al. Mutation and Selection Processes Regulating Short Tandem Repeats Give Rise to Genetic and Phenotypic Diversity Across Species. *Journal of Evolutionary Biology*. 2023;36(2):321-336. <https://doi.org/10.1111/jeb.14106>
  27. Guchetl S.Z., Golovatskaya A.V., Savichenko D.L., Loginova E.D. et al. Development of highly informative microsatellite markers for the genetic

analysis of sunflower. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2025;186(4):142-154. (In Russ.) <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2025-4-142-154>

28. Zelentsov S.V., Moshnenko E.V., Ryabenko L.G., Ovcharova L.R. The types and methods of natural pollination of flax *Linum usitatissimum* L. *Oil Crops*. 2018;(1(173)):105-113. (In Russ.) <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2018-1-173-105-113>

29. Brookes A.J. The essence of SNPs. *Gene*. 1999;234(2):177-186. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00219-X](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00219-X)

30. Ryabenko L.G., Zelentsov S.V., Ovcharova L.R., Zelentsov V.S. et al. Winter variety of oil flax Snegurok. *Oil Crops*. 2020;(4(184)):99-102. (In Russ.) <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2020-4-184-99-102>

31. Galitskiy D.N., Shamanin V.P. The dependence of accumulation of oil and fatty acid composition of environmental conditions in the seeds of flax oil in Southern forest-steppe zone of Omsk Region. *Omsk Scientific Bulletin*. 2014;(2(134)):169-173. (In Russ.)

32. Luchkina T.N., Gorbachenko O.F., Zbrailova L.P., Bushnev A.S. et al. Environmental testing of oil flax varieties in the Rostov Region. *Oil Crops*. 2020;(4(184)):24-31. (In Russ.) <https://doi.org/10.25230/2412-608X-2020-4-184-24-31>

### Сведения об авторах

**Алена Сергеевна Истомина**, аналитик лаборатории молекулярно-генетических исследований, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта»; 350038, Российская Федерация, г. Краснодар, ул. Филатова, 17; e-mail: bogach-alena@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0000-7741-3581>

**Дмитрий Леонидович Савиченко**, научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта»; 350038, Российская Федерация, г. Краснодар, ул. Филатова, 17; e-mail: d\_savichenko@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8457-2919>

**Саида Заурбиевна Гучетль**, канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований, Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский институт масличных культур имени В.С. Пустовойта»; 350038, Российская Федерация, г. Краснодар, ул. Филатова, 17; e-mail: saida.guchetl@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2193-5230>

### Information about the authors

**Alena S. Istomina**, Analyst at the Laboratory of Molecular Genetic Research, V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops; 17 Filatova St., Krasnodar, 350038, Russian Federation; e-mail: bogach-alena@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0000-7741-3581>

**Dmitrii L. Savichenko**, Research Associate at the Laboratory of Molecular Genetic Research, V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops; 17 Filatova St., Krasnodar, 350038, Russian Federation; e-mail: d\_savichenko@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8457-2919>

**Saida Z. Guchetl**, CSc (Bio), Leading Research Associate, Head of the Laboratory of Molecular Genetic Research, V.S. Pustovoit All-Russian Research Institute of Oil Crops; 17 Filatova St., Krasnodar, 350038, Russian Federation; e-mail: saida.guchetl@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2193-5230>