

А.В. Усатов¹, доктор биологических наук, профессор;

М.С. Макаренко¹, аспирант;

О.Ф. Горбаченко², доктор сельскохозяйственных наук;

К.В. Азарин¹, кандидат биологических наук;

А.А. Ковалевич¹, студент;

П.И. Костылев³, доктор сельскохозяйственных наук, профессор;

Н.В. Маркин¹, кандидат биологических наук,

¹Академия биологии и биотехнологии, Южный федеральный университет,
(344090, г. Ростов-на-Дону, просп. Стачки 194/1, email: usatova@mail.ru);

²ФБГНУ Донская опытная станция им. Л.А. Жданова ВНИИМК, (346754, п.
Опорный, Азовский район, Ростовская область; email: oleg_gorbachenko@mail.ru);

³ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»,
(347740, г. Зерноград, Научный городок, 3; email: p-kostylev@mail.ru)

ДНК-МАРКЕРЫ ГЕТЕРОЗИСА У ГИБРИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ОТЕЧЕСТВЕННОЙ СЕЛЕКЦИИ

Проведен анализ полиморфизма микросателлитных локусов ядерного генома с помощью 12-ти SSR-маркеров (*Ha 432, Ha 514, Ha 1442, Ha 1608, Ha1287, IUB6, ORS6, ORS 509, IUB4, HNCA1, OSU-1, HNCA2*) 7-и генотипов гибридов F₁ подсолнечника (Донской 151 - ♀ВД 151 x ♂ВД 541; Партнер - ♀ЭД 1443 x ♂ВД 541; Донской 22 - ♀ВД 22 x ♂ВД 541; Гарант - ♀ЭД 931 x ♂ВД 62; Престиж - ♀ЭД 169 x ♂ВД 62; Сигнал - ♀ЭД 236 x ♂ВД 110; Донской 1448 - ♀ВД 1448 x ♂ВД 62) и их родительских линий, селекции Донской опытной станции им. Л.А. Жданова ВНИИМК. Всего определены 36 аллельных вариантов. Для каждого генотипа построена аллельная формула, которая может быть использована в качестве его молекулярно-генетического паспорта. Изученная маркерная система имеет высокий дискриминационный потенциал для идентификации селекционных образцов подсолнечника. Исследован эффект гетерозиса у гибридов F₁, генетическое разнообразие родительских линий на основе SSR- маркеров, а также связь генетических дистанций с комбинационной способностью подсолнечника. Десять элитных инбредных линий (3 Rf- линии и 7 ЦМС линии) и их гибриды были исследованы по высоте, урожайности растений, массе 1000 семян, масличности и лужистости семян. Полевые испытания проводили в течение 6 сезонов. Генетическое расстояние между родительскими линиями подсолнечника варьировали от 0,45 до 0,74. Обнаружена достоверная положительная корреляция эффекта гетерозиса по урожаю семян у гибридов ($r = 0,79, p < 0,05$) от генетических дистанций между родительскими линиями.

Ключевые слова: гетерозис, ДНК-маркеры, SSR- анализ, генетические дистанции, подсолнечник.

A.V. Usatov¹, Doctor of Biological Sciences, professor;

M.S. Makarenko¹, post graduate student;

O.F. Gorbachenko², Doctor of Agricultural Sciences;

K.V. Azarin¹, Candidate of Biological Sciences;

A.A. Kovalevich¹, student;

P.I. Kostylev³, Doctor of Agricultural Sciences, professor;

N.V. Markin¹, Candidate of Biological Sciences

¹*Academy of Biology and Biotechnology, the Southern Federal University
(344090, Rostov-on-Don, Stachky Av., 194/1; email: usatova@mail.ru);*

²*FSBSI Don Experimental Station named after L.A. Zhdanov
(346754, v. of Oporny, Azov district, Rostov region; email: oleg_gorbachenko@mail.ru);*

³*FSBSI "Agricultural Research Center 'Donskoy"
(347740, Zernograd, Nauchny Gorodok, 3; email: p-kostylev@mail.ru)*

DNA-MARKERS OF HETEROSIS OF SUNFLOWER HYBRIDS OF DOMESTIC BREEDING

The article presents the results of the analysis of polymorphism conducted on micro satellite loci of core genome by 12 SSR-markers (Ha 432, Ha 514, Ha 1442, Ha 1608, Ha1287, IUB6, ORS6, ORS 509, IUB4, HNCA1, OSU-1, HNCA2). Seven genotypes of the hybrid F₁ of sunflower (Donskoy 151 - ♀ВД 151 x ♂ВД 541; Partner - ♀ЭД 1443 x ♂ВД 541; Donskoy 22 - ♀ВД 22 x ♂ВД 541; Garant - ♀ЭД 931 x ♂ВД 62; Prestizh - ♀ЭД 169 x ♂ВД 62; Signal - ♀ЭД 236 x ♂ВД 110; Donskoy 1448 - ♀ВД 1448 x ♂ВД 62) and their parental lines developed by the Donskaya Experimental Station named after L.A. Zhdanov have been analyzed. 36 allelic variants have been established. For each genotype there has been designed a separate allelic formula which can be used as its molecule-genetic passport. The studied marker system has a high discrimination potential for identifying sunflower selection samples. The heterosis of hybrid F₁, genetic diversity of parental lines based on SSR-markers as well as genetic distances with combination ability of sunflower have been studied. Ten basic inbred lines (3 Rf lines and 7 CMS lines) and their hybrids have been studied according to such traits as height, plant productivity, 1000-kernels weight, oil content and hull content. The field trials were conducted during 6 seasons. Genetic distance among parental lines of sunflower ranged from 0.45 to 0.74. There has been found a reliable positive correlation of heterosis effect on the yield of seeds in hybrids ($r=0.79$, $p<0.05$) from genetic distances among parental lines.

Keywords: *heterosis, DNA-markers, SSR-analysis, genetic distances, sunflower.*

Введение. Современная гетерозисная селекция подсолнечника направлена на создание и подбор родительских линий, устойчивых к различным абиотическим и

биотическим стрессам с высокой комбинационной способностью. Получение новых коммерческих высокопродуктивных гибридов требует больших временных и экономических затрат. Одним из перспективных подходов, позволяющих значительно сократить трудоемкость селекции, является молекулярно-генетическое маркирование селекционно ценных признаков этой культуры, в том числе с целью надежного прогнозирования эффекта гетерозиса у гибридов F_1 . ДНК-маркеры позволяют оценивать генетическое разнообразие селекционных образцов, определять степень родства между ними [1, 2]. В частности, SSR- или микросателлитный анализ эффективен для решения такого рода задач [3, 4].

Вследствие того, что микросателлитные локусы, в основном, представлены некодирующими участками ДНК, и, следовательно, не попадают под прямое действие отбора, в них накапливаются мутации, что и обуславливает высокий уровень полиморфизма. Чаще всего микросателлитные локусы обладают кодоминантным типом наследования [5]. Следует отметить, что идентификацию сортов подсолнечника с помощью микросателлитного анализа впервые успешно осуществил Брюнель более 20 лет назад [6]. Он экспериментально продемонстрировал, что микросателлитные локусы, представленные множественными аллелями и характеризующиеся сравнительно высокой гетерогенностью, являются удобным и перспективным инструментом для анализа полиморфизма геномной ДНК.

Учитывая актуальность использования молекулярных маркеров для прогнозирования эффекта гетерозиса у гибридов, исходя из уровня генетического разнообразия родительских линий, данное направление молекулярной генетики широко исследуется на различных культурах: рисе [7], пшенице [8], рапсе [9], кукурузе [10] и др. Однако, зачастую полученные результаты носят противоречивый характер [11, 12], что ограничивает их практическое использование в гетерозисной селекции с.-х. культур.

Целью работы является исследование полиморфизма микросателлитных локусов геномной ДНК у гибридов и родительских линий подсолнечника, составление их генетических паспортов, а также анализ корреляций между генетическими дистанциями родительских генотипов и эффекта гетерозиса селекционно значимых признаков у гибридов F_1 .

Материалы и методы. В конкурсных испытаниях в течение 6 лет изучали 7 гетерозисных гибридов, а также их родительские линии (селекционный материал ДОО им. Л.А. Жданова ВНИИМК). Исследовали следующие показатели: высоту растений (см); урожайность растений (ц/га); массу 1000 семян (г); масличность (%) и лужистость

семян (%). Уровень гетерозиса у гибридов по каждому признаку рассчитывали по формуле:

$$\text{ГРС} = ((V_{\Gamma} - (V_{\text{П}} + V_{\text{М}})/2) / (V_{\text{П}} + V_{\text{М}})/2 * 100\%, \text{ где}$$

V_{Γ} - признак гибрида;

$V_{\text{П}}$ - отцовский признак;

$V_{\text{М}}$ - материнский признак.

Геномную ДНК выделяли из молодых листьев подсолнечника по методу Р. Бума с нашими модификациями [13]. При проведении ПЦР использовали 12 SSR праймеров: *Ha 432*, *Ha 514*, *Ha 1442*, *Ha 1608*, *Ha1287*, *IUB6*, *ORS6*, *ORS 509*, *IUB4*, *HNCA1*, *OSU-1*, *HNCA2*. Данные праймеры были отобраны нами ранее [14]. Продукты реакции амплификации разделяли электрофоретически в 2 % агарозном геле с бромистым этидием (1 мкг/мл), используя трис-боратный буфер. Затем гели переносили на трансиллюминатор и фотодокументировали с помощью видеосистемы (GelDoc 2000, BioRad, США). В качестве маркеров массы использовали набор маркеров GeneRuler 100 bp DNA Ladder (Fermentas) и pUC Mix Marker, 8 (Fermentas).

По матрице состояний с помощью компьютерной программы WinBoot рассчитывали генетические дистанции между родительскими линиями (коэффициент Жаккарда). Индекс полиморфного информационного содержания (PIC), отражающий информативность ДНК- маркеров, вычисляли с помощью программы PICcalc [15].

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы Excel пакета Microsoft Office. Корреляционный анализ проводили по Спирмену [16].

Результаты. В результате SSR-анализа 7-и гибридов F_1 , 3-х отцовских и 7-и ЦМС линий подсолнечника были получены специфические и хорошо воспроизводимые фрагменты ДНК. Для каждого образца определены индивидуальные SSR-спектры, различающиеся числом ампликонов, их размерами и степенью выраженности на электрофореграммах.

Суммарно по 12-ти микросателлитным маркерам данной группы генотипов было выявлено 36 аллелей (табл. 1). Число аллелей варьировало от 1 до 6 на локус. Размер детектируемых ДНК-фрагментов был от 110 до 900 пар нуклеотидов. Для анализа данных амплификации микросателлитной ДНК был определен индекс полиморфного информационного содержания (PIC). Индекс полиморфного содержания, отражающий информативность маркеров, варьировал от 0 для праймера *HNCA1* до 0,9 для праймера *Ha 1287*. Среднее значение индекса полиморфного информационного содержания для изученной группы генотипов составил 0,48 (табл. 1).

В результате проведенного SSR-анализа для каждого генотипа (родительские линии и гибриды), на основании полученного набора аллелей микросателлитных локусов были составлены молекулярно-генетические паспорта (табл. 2), или генетические формулы, их генотипов. Большими буквами латинского алфавита обозначены праймеры, нижний индекс определяет аллельное состояние локуса, который он маркирует.

1. Праймеры, использованные в SSR-анализе

Локус	Повтор	Последовательность фланкирующих праймеров 5' – 3'	Количество аллелей	PIС*	Размер ампликонов, п.н.
<i>Ha 432</i>	GT	CTT TAT CCC CCA CCC CCT CC GGG TTT AGT GGC CAG TAG TTG TC	5	0,73	180-900
<i>Ha 1442</i>	ATT	GCT TAT GTG CTT ACG TGT TCC TG CTA AAC AGT TCG GCG AGT GTA GG	4	0,63	140-240
<i>Ha 1608</i>	ATT	GAT CTT AGG TCC GCC AC GAT GGC ATT TGG CTA GAC	3	0,52	210-280
<i>IUB 4</i>	AT	GGC CAT GAT TTA TTC ACT CAG ACA GAT GAG AGG CGT TCT CAC	2	0,36	130-190
<i>ORS 509</i>	AT GT	CAA CGA AAA GAC AGA ATC GAA A CCG GGA ATT TTA CAA GGT GA	3	0,48	180-250
<i>Ha514</i>	GA	GGT CAA CGG ATT TAG AGT C GTA TTG ATT CCA ACA TCC AG	3	0,63	170-210
<i>IUB6</i>	GT	TCG GTA TCG TTT GCT AAT GG GGT AAC TCT AAA GCT CTG TC	2	0,36	320-380
<i>ORS6</i>	AGG	GTG GAG AGA GGT GTA GAG AGC CAC CCC TCA CCC TGA CAC	2	0,21	240-290
<i>Ha1287</i>	GA	GAT ATG AGC CCA TCA CTC ATC GAA GAT ATG TCA GGT CAC ACC C	6	0,90	210-400
<i>HNCA1</i>	GT	TTG GAG ATG TGT TTG TGT TCT AGA G ACC TAC ACC TTA GTT AAA CCT TGC C	1	0,0	110
<i>HNCA2</i>	GT	TGA GAC AAG CAT AAG CAC TAG ACA AGA CAA GGG ACT	2	0,36	210-340
<i>OSU-1</i>	GGG	ACA AGT CGG CTG GTG AGC ACA TGA AAC ACG AGC TAA ACC A	3	0,53	120-210
Среднее значение			3	0,48	3

*PIС – индекс полиморфного информационного содержания.

2. Генетические формулы родительских линий и гибридов F₁ подсолнечника

Образцы	Формулы*
ЦМС-линии (материнские формы)	
ЭД 1443	A ₄ B ₂ C ₁ C ₂ C ₄ D ₂ E ₁ E ₂ F ₁ G ₁ H ₂ I ₁ J ₄ K ₁ L ₁ L ₂
ЭД 151	A ₃ A ₄ B ₃ C ₁ C ₃ C ₄ D ₂ E ₁ E ₂ F ₂ G ₁ H ₂ I ₂ J ₂ K ₁ L ₂
ВД 22	A ₃ A ₄ B ₂ C ₁ C ₃ C ₄ D ₁ E ₁ E ₂ F ₁ G ₁ H ₂ I ₁ J ₀ K ₁ L ₁ L ₂
ЭД 931	A ₃ A ₄ B ₂ C ₁ C ₃ C ₄ D ₃ E ₁ E ₂ F ₁ G ₁ H ₂ I ₁ J ₂ J ₄ K ₁ L ₁ L ₂
ЭД 169	A ₄ B ₂ C ₃ C ₄ D ₂ E ₁ E ₂ F ₁ G ₁ H ₂ I ₁ J ₂ J ₄ K ₁ L ₁ L ₂
ЭД 236	A ₃ A ₄ B ₁ C ₁ C ₃ D ₁ E ₁ E ₂ F ₂ G ₁ H ₂ I ₂ J ₃ J ₄ K ₁ L ₂
ВД 1448	A ₄ B ₁ C ₁ C ₃ C ₄ D ₁ E ₁ E ₂ F ₂ G ₂ H ₂ I ₀ J ₀ K ₁ L ₂
Rf-линии (отцовские формы)	
ВД 541	A ₂ A ₃ A ₄ B ₂ C ₁ C ₄ D ₁ E ₁ E ₂ F ₂ G ₁ H ₂ I ₂ J ₅ K ₁ L ₁ L ₂
ВД 62	A ₃ A ₄ B ₃ C ₁ C ₂ C ₄ D ₂ E ₁ E ₂ F ₂ G ₂ H ₃ I ₁ J ₃ J ₄ K ₁ L ₁ L ₂
ВД 110	A ₁ A ₃ A ₄ B ₃ C ₁ C ₄ D ₁ E ₁ F ₁ G ₁ H ₁ I ₂ J ₆ K ₁ L ₁ L ₂
Гибриды F ₁	
Донской 151 ♀ВД 151 x ♂ВД 541	A ₅ B ₃ C ₁ C ₃ C ₄ D ₃ E ₁ E ₂ F ₂ G ₂ H ₂ I ₃ J ₁ J ₆ K ₁ L ₂
Партнер ♀ЭД 1443 x ♂ВД 541	A ₂ A ₄ B ₂ C ₁ C ₄ D ₃ E ₁ E ₂ F ₁ G ₁ H ₂ I ₃ J ₅ J ₆ K ₁ L ₁ L ₂
Донской 22 ♀ВД 22 x ♂ВД 541	A ₂ A ₃ A ₄ B ₂ C ₁ C ₄ D ₂ E ₁ E ₂ F ₂ G ₁ H ₂ I ₃ J ₆ K ₁ L ₁ L ₂
Гарант ♀ЭД 931 x ♂ВД 62	A ₄ B ₃ C ₁ C ₃ C ₄ D ₂ E ₁ E ₂ F ₁ G ₁ H ₂ I ₂ J ₄ K ₁ L ₁ L ₂
Престиж ♀ЭД 169 x ♂ВД 62	A ₃ A ₄ B ₂ C ₁ C ₃ C ₄ D ₃ E ₁ E ₂ F ₁ G ₁ H ₂ I ₂ J ₄ K ₁ L ₁ L ₂
Сигнал ♀ЭД 236 x ♂ВД 110	A ₁ A ₅ B ₂ C ₂ C ₄ D ₂ E ₁ E ₂ F ₁ G ₁ H ₂ I ₂ J ₅ K ₁ L ₁ L ₂
Донской 1448 ♀ВД 1448 x ♂ВД 62	A ₄ B ₃ C ₁ C ₃ C ₄ D ₂ E ₁ E ₂ F ₁ G ₁ H ₂ I ₂ J ₄ K ₁ L ₁ L ₂

* код праймера *A-На 432; B-На 514; C-На 1442; D-На 1608; E-IUB 4; F-IUB 6; G-ORS 6; H-ORS 509; I-OSU 1; J-На 1287; K-HNCA 1; L-HNCA 2.*

На основании результатов SSR-анализа (табл. 1) были рассчитаны генетические дистанции, отражающие генетическое расстояние между изученными генотипами родительских линий (табл. 3).

3. Генетические дистанции между родительскими линиями подсолнечника, рассчитанные по результатам SSR-анализа

Отцовские линии	Материнские линии	Генетические дистанции	Гибриды F ₁
ВД 541 RF	ВД 151	0,72	Донской 151
	ЭД 1443	0,64	Партнер
	ВД 22	0,57	Донской 22

ВД 62 RF	ЭД 931	0,55	Гарант
	ЭД 169	0,57	Престиж
	ВД 1448	0,45	Донской 1448
ВД 110 RF	ЭД 236	0,74	Сигнал

Как видно из таблицы 3, по данной системе SSR-маркеров был обнаружен высокий уровень генетического разнообразия между ЦМС- и Rf-линиями подсолнечника.

В таблице 4 суммированы за 6 лет конкурсных испытаний средние значения коэффициента гетерозиса (ГРС, %) семи гибридных комбинаций относительно среднего значения признаков родительских форм.

4. Эффект гетерозиса у гибридов относительно среднего значения признака
родительских форм (ГРС, %)

Гибриды F ₁	Урожайность	Масличность	Лузжистость	Масса 1000 семян	Высота растений
Донской 151	249,75	2,56	3,00	24,43	27,12
Партнер	283,33	4,76	-0,92	31,62	35,06
Донской 22	207,68	-1,97	7,39	25,28	26,43
Гарант	159,06	11,48	-7,29	20,37	42,37
Престиж	151,57	26,54	-18,30	7,99	36,56
Донской 1448	120,54	11,26	-11,75	11,74	35,52
Сигнал	210,86	7,25	-1,17	25,76	28,59

В таблице 5 суммированы результаты корреляционного анализа между генетическими дистанциями и уровнем гетерозиса по исследованным селекционным признакам.

5. Коэффициент корреляции (по Спирмену) между генетическими дистанциями и ГРС по исследованным признакам

	Генетические дистанции	Урожайность, %	Масличность, %	Лузжистость, %	Масса 1000 семян, %	Высота растений, %
Генетические дистанции	1	0,79*	-0,43	0,47	0,65	-0,56

* $p < 0.05$

Проведенный анализ показал достоверную положительную корреляцию ($r = 0,79$, $p < 0,05$) между урожайностью гибридов и генетическим расстоянием между родительскими линиями. По остальным признакам корреляция между уровнем гетерозиса и генетическими дистанциями не выявлена.

Выводы

1. Проведен анализ полиморфизма микросателлитных локусов ядерного генома с помощью 12-ти SSR-маркеров 17-ти генотипов родительских линий и гибридов F_1 подсолнечника селекции ДЭС им. Л.А. Жданова ВНИИМК. Всего выявлено 36 аллельных варианта. Для каждого генотипа на основе исследованных микросателлитных локусов определена аллельная формула, которая может быть использована в качестве его молекулярно-генетического паспорта. Изученная маркерная система имеет высокий дискриминационный потенциал для идентификации селекционных образцов подсолнечника.

2. В результате исследования, проведенного в течение 6-ти лет на гибридах F_1 подсолнечника с помощью SSR маркеров, была обнаружена положительная корреляция между эффектом гетерозиса (ГРС, %) по урожайности и генетическими дистанциями между родительскими линиями ($r = 0,79$, $p < 0,05$). Достоверные корреляции с другими исследованными признаками (высота растений, масса 1000 семян, масличность и лузжистость семян) не выявлены.

Результаты получены в рамках выполнения государственного задания

Минобрнауки России, проект № 6.929.2017/4.6, на оборудование ЦКП «Высокие технологии» Южного федерального университета.

Литература

1. Маркин, Н.В. Анализ полиморфизма хлоропластной ДНК культурного и дикорастущего подсолнечника *Helianthus petiolaris* / Н.В. Маркин, К.В. Азарин, В.С.

Лотник, О.Ф. Горбаченко, В.А. Гаврилова, А.В. Усатов // Масличные культуры: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2011. – № 2 (148-149). – С. 105-108.

2. Усатов, А.В. SSR-анализ геномной ДНК ЦМС-линий подсолнечника / А.В. Усатов, Н.В. Маркин, Ф.И. Горбаченко, М.А. Федорова, В.Е. Тихобаева, О.Ф. Горбаченко, К.В. Азарин // Масличные культуры: Науч.-тех. бюл. ВНИИМК. – 2011. – № 1 (147-148). – С. 15-20.

3. Wende, A. Genetic interrelationships among medium to late maturing tropical maize inbred lines using selected SSR markers / A. Wende, H. Shimelis, J. Derera, W. Mosisa, J. Danson, M. D. Laing // Euphytica. – 2013. – № 2 (191). – P. 269-277.

4. He, J. Relationship between SSR Genetic Distance and Heterosis in Hot Pepper / J. He, H. Jiang, H. Yang, D. Su, Y. Liu // Agricultural Science & Technology. – 2013. – №. 9 (14). – P. 1224-1227.

5. Wu, M. Rapid and reliable purity identification of F₁ hybrids of Maize (*Zea mays* L.) using SSR markers / M. Wu, X. Jia, L. Tian, B. Lv // Maize Genomics and Genetics. – 2010. – №. 4(3) – P. 381-384.

6. Brunel, D. A microsatellite marker of *Helianthus annuus* L. / D. Brunel // Plant Molecular Biology. – № 2 (24). – P. 397-400.

7. Luo, X. Identification of heterotic loci associated with yield-related traits in Chinese common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) / X. Luo, S. Wu, F. Tian, X. Xin, X. Zha, X. Dong, Y. Fu, X. Wang, J. Yang, C. Sun // Plant science. – 2011. – №. 1(181). – P. 14-22.

8. Krystkowiak, K. Relationship between phenotypic and genetic diversity of parental genotypes and the specific combining ability and heterosis effects in wheat (*Triticum aestivum* L.) / K. Krystkowiak, T. Adamski, M. Surma, Z. Kaczmarek // Euphytica. – 2009. – № 3 (165). – P. 419-434.

9. Basunanda, P. Comparative mapping of quantitative trait loci involved in heterosis for seedling and yield traits in oilseed rape (*Brassica napus* L.) / P. Basunanda, M. Radoev, W. Ecke, W. Friedt, H. C. Becker, R. J. Snowdon, // Theoretical and Applied Genetics. – 2010. – №. 2 (120). – P. 271-281.

10. Van Inghelandt, D. Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers / D. Van Inghelandt, A. E. Melchinger, C. Lebreton, B. Stich // Theoretical and Applied Genetics. – 2010. – №. 7 (120). – P. 1289-1299.

11. Teklewold, A. Comparison of phenotypic and molecular distances to predict heterosis and F₁ performance in Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) / H.C. Becker // Theoretical and applied genetics. – 2006. – № 4 (112). – P. 752-759.

12. Gvodzenovic, S. Correlation between heterosis and genetic distance based on SSR markers in sunflower (*Helianthus annuus* L.) / S. Gvodzenovic, D. Pankovic-Saftic, S. Jocic, V. Radic // Journal of Agricultural Sciences. – 2009. – № 1 (54). – P. 1-10.

13. Usatov, A. V. DNA-markers of sunflower resistance to the downy mildew (*Plasmopara Halstedii*) / A.V. Usatov, A.I. Klimenko, K.V. Azarin, O.F. Gorbachenko, N.V. Markin, V.E. Tikhobaeva, Yu.A. Kolosov, O.A. Usatova, S.Yu. Bakoev, M.Yu. Bibov, L.V. Getmantseva // American Journal of Biochemistry and Biotechnology. – 2014. – № 2 (10). – P. 125-129.

14. Usatov, A. V. The relationship between heterosis and genetic distances based on SSR markers in *Helianthus annuus* / A.V. Usatov, A.I. Klimenko, K.V. Azarin, O.F. Gorbachenko, N.V. Markin, V.E. Tikhobaeva, Yu A. Kolosov, O.A. Usatova, S. Bakoev, M. Makarenko, L. Getmantseva // American Journal of Agricultural and Biological Sciences. – 2014. – № 3 (9). – P. 270-276.

15. Nagy, S. PICcalc: an online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies / S. Nagy, P. Poczai, I. Cernák, A.M. Gorji, G. Hegedűs, J. Tallér // Biochemical Genetics. – 2012. - № 10 (50). – P. 670-672.

16. Glantz, S.A. Primer of Biostatistics. Seventh Edition. – New York: McGraw-Hill Professional, 2011. – 320 p.

Literature

1. Markin, N.V. The analysis of poly morphology of chloroplast DNA of wild and cultivated sunflower *Helianthus petiolaris* / N.V. Markin, K.V. Azarin, V.S. Lotnik, O.F. Gorbachenko, V.A. Gavrilova, A.V. Usatov // Oil cultures: scientific bulletin of ARIMK. – 2011. – № 2 (148-149). – PP. 105-108.

2. Usatov, A.V. SSR-analysis of genome DNA of CMS-lines of sunflower /A.V. Usatov, N.V. Markin, F.I. Gorbachenko, M.A. Fedorova, V.E. Tikhobaeva, O.F. Gorbachenko, K.V. Azarin // Oil cultures: scientific bulletin of ARIMK. – 2011. – № 1 (147-148). – PP. 15-20.

3. Wende, A. Genetic interrelationships among medium to late maturing tropical maize inbred lines using selected SSR markers /A. Wende, H. Shimelis, J. Derera, W. Mosisa, J. Danson, M. D. Laing // Euphytica. – 2013. – № 2 (191). – P. 269-277.

4. He, J. Relationship between SSR Genetic Distance and Heterosis in Hot Pepper / J. He, H. Jiang, H. Yang, D. Su, Y. Liu // Agricultural Science & Technology. – 2013. – №. 9 (14). – P. 1224-1227.

5. Wu, M. Rapid and reliable purity identification of F1 hybrids of Maize (*Zea may* L.) using SSR markers / M. Wu, X. Jia, L. Tian , B. Lv // Maize Genomics and Genetics. – 2010. – №. 4(3) – P. 381-384.

6. Brunel, D. A microsatellite marker of *Helianthus annuus* L. / D. Brunel // *Plant Molecular Biology*. – № 2 (24). – P. 397-400.
7. Luo, X. Identification of heterotic loci associated with yield-related traits in Chinese common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) / X. Luo, S. Wu, F. Tian, X. Xin, X. Zha, X. Dong, Y. Fu, X. Wang, J. Yang, C. Sun // *Plant science*. – 2011. – № 1(181). – P. 14-22.
8. Krystkowiak, K. Relationship between phenotypic and genetic diversity of parental genotypes and the specific combining ability and heterosis effects in wheat (*Triticum aestivum* L.) / K. Krystkowiak, T. Adamski, M. Surma, Z. Kaczmarek // *Euphytica*. – 2009. – № 3 (165). – P. 419-434.
9. Basunanda, P. Comparative mapping of quantitative trait loci involved in heterosis for seedling and yield traits in oilseed rape (*Brassica napus* L.) / P. Basunanda, M. Radoev, W. Ecke, W. Friedt, H. C. Becker, R. J. Snowdon // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2010. – № 2 (120). – P. 271-281.
10. Van Inghelandt, D. Population structure and genetic diversity in a commercial maize breeding program assessed with SSR and SNP markers / D. Van Inghelandt, A. E. Melchinger, C. Lebreton, B. Stich // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2010. – № 7 (120). – P. 1289-1299.
11. Teklewold, A. Comparison of phenotypic and molecular distances to predict heterosis and F1 performance in Ethiopian mustard (*Brassica carinata* A. Braun) / H.C. Becker // *Theoretical and applied genetics*. – 2006. – № 4 (112). – P. 752-759.
12. Gvodzenovic, S. Correlation between heterosis and genetic distance based on SSR markers in sunflower (*Helianthus annuus* L.) / S. Gvodzenovic, D. Pankovic-Saftic, S. Jovic, V. Radic // *Journal of Agricultural Sciences*. – 2009. – № 1 (54). – P. 1-10.
13. Usatov, A. V. DNA-markers of sunflower resistance to the downy mildew (*Plasmopara Halstedii*) / A.V. Usatov, A.I. Klimenko, K.V. Azarin, O.F. Gorbachenko, N.V. Markin, V.E. Tikhobaeva, Yu.A. Kolosov, O.A. Usatova, S.Yu. Bakoev, M.Yu. Bibov, L.V. Getmantseva // *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. – 2014. – № 2 (10). – P. 125-129.
14. Usatov, A. V. The relationship between heterosis and genetic distances based on SSR markers in *Helianthus annuus* / A.V. Usatov, A.I. Klimenko, K.V. Azarin, O.F. Gorbachenko, N.V. Markin, V.E. Tikhobaeva, Yu. A. Kolosov, O.A. Usatova, S. Bakoev, M. Makarenko, L. Getmantseva // *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. – 2014. – № 3 (9). – P. 270-276.
15. Nagy, S. PICcalc: an online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies / S. Nagy, P. Poczai, I. Cernák, A.M. Gorji, G. Hegedűs, J. Teller // *Biochemical Genetics*. – 2012. – № 10 (50). – P. 670-672.

16. Glantz, S.A. Primer of Biostatistics. Seventh Edition. – New York: McGraw-Hill Professional, 2011. – 320 p.