

МРНТИ 68.35.03, 68.35.33

<https://doi.org/10.26577/eb.2021.v88.i3.07>**А.А. Амангелдиева** , **А.М. Абекова*** , **Р.С. Ержебаева** 

Казахский научно-исследовательский институт земледелия
и растениеводства, Казахстан, п. Алмалыбак
*e-mail: aabekova@mail.ru

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОДНОРОДНОСТИ ЛИНИЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В КАЧЕСТВЕ КОМПОНЕНТОВ ГИБРИДОВ

В настоящее время селекция сахарной свёклы направлена в основном на создание высокопродуктивных гибридов на основе линейного исходного материала. Для получения гетерозисных гибридов важным этапом является создание константных (гомозиготных) исходных линий с высокой комбинационной способностью. Традиционно выровненные линии сахарной свёклы получают путём многократно повторяющегося отбора самоопылённых линий. Сложности селекции сахарной свёклы и поддержания генетической однородности обусловлены двухлетним циклом развития, инбредной депрессией и перекрестной несовместимостью. Для повышения эффективности создания и поддержания генетической однородности линий сахарной свёклы, используемых в качестве компонентов гибридов, начаты работы по внедрению ДНК-маркеров в селекционный процесс сахарной свёклы ТОО «КазНИИЗиР». В качестве материала исследований были использованы 20 линий сахарной свёклы коллекции КазНИИЗиР. Целью исследований являлось изучение генетической однородности линейного материала сахарной свёклы различного происхождения и уровня пloidности с использованием SSR-маркеров. В работе были использованы 3 SSR маркера – Bv21, Bv53, Bv155. По результатам оценки на однородность установлено, что большинство проанализированных линий характеризуются средней степенью выровненности. Наибольшая однородность отдельных индивидуальных растений внутри линии по трем маркерам была отмечена по ЦМС линии ЧС 1631 (Украина), по двум маркерам у линий МС-7, МС-1949 (Россия).

Ключевые слова: SSR-маркер, сахарная свёкла, компоненты гибрида, генетическая однородность, ПЦР-анализ.

A.A. Amangeldiyeva, A.M. Abekova*, R.S. Yerzhebayeva

Kazakh scientific research institute of agriculture
and plant growing, Kazakhstan, Almalybak village
*e-mail: aabekova@mail.ru

Evaluation of the genetic homogeneity of the sugar beet lines used as sources in hybrid production

Currently, efforts in sugar beet selection are aimed mainly at the creation of highly productive hybrid combinations which could be repeatedly derived from source line material. Naturally, the important step in this process is the development of constant homozygous source lines with high combining ability. Traditional approach in development of uniform sugar beet lines is based on repeated selection of self-pollinated lines. However, biennial lifecycle, cross-incompatibility and inbreeding depression all make breeding and maintaining the genetic homogeneity of sugar beet a challenging endeavor. To increase efficiency of development and preservation of genetic homogeneity of sugar beet lines used in hybrid production at the LLP "KazSRIA&PG", our biotechnology lab started working on introduction of DNA markers into the selection process. Twenty sugar beet lines of various origins and levels of ploidy from LLP "KazSRIA&PG" collection have been studied, to assess their genetic homogeneity, using three SSR markers: Bv21, Bv53 and Bv155. The produced data showed that the majority of lines can be characterized as having average level of uniformity. The highest homogeneity among individual plants belonging to one line, based on data from all three markers, was estimated for CMS line MS 1631 (Ukraine) and by data from a set of two markers for CMS lines MS-7 and MS-1949 (Russia).

Key words: SSR-marker, sugar beet, hybrid components, genetic homogeneity, PCR analysis.

А.А. Амангелдиева, А.М. Абекова*, Р.С. Ержебаева

Қазақ егіншілік және өсімдік шаруашылығы ғылыми
зерттеу институты, Қазақстан, Алмалыбақ аул.

*e-mail: aabekova@mail.ru

Будандардың компоненттері ретінде қолданылатын қант қызылшасының линияларының генетикалық біртектілігін бағалау

Қазіргі уақытта қант қызылшасының селекциясы негізінен бастапқы материал ретінде линияны қолдану арқылы жоғары өнімді будандарды алуға бағытталған. Гетерозис будандарын алу үшін жоғары комбинациялық қабілеті бар тұрақты (гомозиготалы) бастапқы линияларды алу маңызды қадам болып табылады. Дәстүрлі түрде біркелкі қант қызылшасы линияларын өздігінен тозаңданған линияларды бірнеше рет таңдау арқылы алады. Қант қызылшасының селекциясын және генетикалық біртектілігін сақтау қиындықтары екі жылдық даму цикліне, инбредті депрессияға және айкастозаңданудың сәйкессіздігімен байланысты. Будандардың компоненттері ретінде пайдаланылатын қант қызылшасы линияларының генетикалық біртектілігін құру және қолдау тиімділігін арттыру үшін “ҚазЕжӨШФЗИ” ЖШС қант қызылшасының селекциялық процесіне ДНК – маркерлерді енгізу бойынша жұмыстар бастады. Зерттеу материалы ретінде ҚазЕжӨШФЗИ топтамасындағы қант қызылшасының 20 линиясы пайдаланылды. Зерттеудің мақсаты SSR-маркерлерін қолдана отырып, шығу тегі және пloidтылық деңгейі әр түрлі қант қызылшасының линияларының генетикалық біртектілігін зерттеу. Жұмыста 3 SSR маркері – Bvv 21, Bvv53, Bvv 155 қолданылды. Біртектілікті бағалау нәтижелері бойынша зерттелген линиялардың көпшілігі орташа деңгейдегі біртектілікпен сипатталғандығы анықталды. Үш маркер бойынша линиялар ішіндегі жекелеген жеке өсімдіктердің ең үлкен біртектілігі ЦАҰ ЧС 1631 (Украина) линиясында, МС-7, МС-1949 (Ресей) линиялары екі маркер бойынша анықталды.

Түйін сөздер: SSR-маркер, қант қызылшасы, буданның компоненттері, генетикалық біртектілік, ПЦР-талдау.

Сокращения и обозначения

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота, КазНИИЗиР – Казахский научно-исследовательский институт земледелия и растениеводства, ЦМС – цитоплазматическая мужская стерильность, ФАО – Продовольственная и сельскохозяйственная организация, КН МОН РК – Комитет науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, PIC – Индекс информативности маркеров, ПЦР – Полимеразная цепная реакция, SSR – Simple Sequence Repeats, RAPD – Relative Afferent Pupillary Defect, AFLP – Amplified fragment length polymorphism, RFLP – Restriction fragment length polymorphism, ISSR – Inter Simple Sequence Repeats

Введение

Сахарная свекла (*Beta vulgaris* L.) – экономически важная культура в зонах умеренного климата, на которую приходится примерно 25% мирового производства сахара. Площадь возделывания сахарной свеклы по данным ФАО составила в 2019 году 4,6 млн. га, а производство 278,4 млн. тонн [1]. Помимо производства сахара, сахарная промышленность ежегодно производит большое количество побочных продуктов, таких как патока и жом, которые широко

используются в качестве кормовых добавок для домашнего скота [2, 3]. Благодаря высокому содержанию легко ферментируемых сахаров, жом и меласса обладают большим потенциалом для энергоэффективного производства биоэтанола [4, 5]. Они также представляют важное сырье для алкогольной, дрожжевой и фармацевтической промышленности.

Сахарная свекла – это перекрестноопыляемая культура, селекция которой основана на скрещивании диплоидных цитоплазматических линий с мужской стерильностью (ЦМС) и тетраплоидных или все чаще диплоидных линий опылителей, что приводит к получению триплоидных или диплоидных гибридов соответственно [6]. Генетическая база коммерческих гибридов сахарной свеклы в течение некоторого времени была узкой, в основном из-за многократного использования в программах селекции в качестве родительских форм ограниченного числа генотипов [7]. Это вызывает инбридинговую депрессию и снижение генетической изменчивости [8]. Кроме этого проблемой в селекции сахарной свеклы является то, что родительские линии могут являться не однородными и представлять собой смеси генотипов, соответственно и гибриды F₁ будут состоять из смесей растений из различных родительских комбинаций. Это приводит к некоторым труд-

ностям при испытании и регистрации гибридов сахарной свеклы [9].

Оценка и характеристика зародышевой плазмы – это первоочередная задача, которая позволяет сократить трудоемкость и затратность подбора подходящих родительских линий и ускорения генетического улучшения. Следовательно, лучшее понимание генетической изменчивости внутри и между популяциями, используемыми в качестве компонентов гибридов, а также их взаимоотношений, важно для эффективного отбора гибридных скрещиваний и дальнейшего совершенствования программ селекции [10]. Для этого наиболее подходящими признаны методы, основанные на анализе молекулярных маркеров [11, 12].

По литературным данным, для генетического анализа сахарной свеклы были использованы различные типы маркеров на основе ДНК, включая полиморфизм длины рестриционных фрагментов (RFLP) [13,14], полиморфизм длины амплифицированных фрагментов (AFLP) [15,16], случайно амплифицированные полиморфные ДНК [17], [18], межпростой повтор последовательности (ISSR) [14], однонуклеотидный полиморфизм [19, 20] и простые повторы последовательности (SSR) [9, 21].

Среди множества молекулярных маркеров SSR-маркеры нашли широкое применение благодаря их высокой воспроизводимости, гипервариабельности, мультиаллелизму, кодоминантному наследованию, обширному охвату генома, хромосомно-специфическому расположению [22] и простому автоматическому обнаружению с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). SSR-маркеры были использованы для оценки генетического разнообразия зародышевой плазмы сахарной [23, 24, 25, 26].

В Казахстане селекция сахарной свеклы по полной схеме селекционного процесса ведется в ТОО «Казахский НИИ земледелия и растениеводства». В настоящее время на территории РК допущено к использованию 8 гибридов сахарной свеклы селекции КазНИИЗиР, однако применение ДНК-маркеров в селекционном процессе, семеноводстве для оценки чистоты линий и генетического разнообразия компонентов скрещивания почти не проводится. Опубликована лишь единичная работа по оценке полиморфизма образцов сахарной свеклы с использованием RAPD маркеров [27]. В настоящее время в рамках проектов гранта КН МОН РК начаты работы по внедрению ДНК-маркеров в селекционный процесс сахарной свеклы ТОО «КазНИИЗиР».

В данной экспериментальной работе была поставлена цель по изучению генетической однородности линейного материала сахарной свеклы различного происхождения, уровня пloidности с использованием SSR-маркеров.

Материал и методика исследований

Материал исследований. Материалом исследований служили 20 линий, используемых в качестве компонентов гибридов коллекции КазНИИЗиР (таблица 1). Материал коллекции представлен образцами, полученными из ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова» (г. Рамонь, Россия), ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр институт цитологии и генетики сибирского отделения российской академии наук», Института биоэнергетических культур и сахарной свеклы (г. Киев, Украина) в различные годы и образцы селекции КазНИИЗиР.

Методы исследований. Выделение геномной ДНК проводили из проростков сахарной свеклы в фазу первой пары настоящих листьев с использованием методики *DeLaporta S.L.* [28]. ДНК линий были представлены 20 индивидуальными растениями. Качество выделенной ДНК определяли методом электрофореза в 1 %-ном агарозном геле в присутствии бромистого этидия. Измерение концентрации ДНК проводили спектрофотометрическим методом, который основан на отношении длин волн при максимальной фотометрической абсорбции нуклеиновых кислот при 260 нм и 280 нм на приборе Jenway (Англия). Для оценки генетического разнообразия использован метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). ПЦР-анализ проводили в амплификаторе «Eppendorf Mastercycler pro» (Германия). В работе использовали 3 SSR маркера – Bvv 21, Bvv53, Bvv 155 согласно публикации Smulders M.J., 2010 (синтез ООО «Биолабмикс», Россия, г. Новосибирск)

Реакционная среда для ПЦР-амплификации состояла из 15 мкл: 2 мкл (50 ng) исследуемой ДНК, 1,5 мкл реакционный буфер (10 × *TagBuffer* с KCl), 0,7 мкл dNTP (4 mM) смесь четырех dNTP (ООО «Синтол», г. Москва, Россия), 0,5 мкл БСА («Thermo Scientific», США), по 0,5 мкл каждого праймера («Биосан», г. Новосибирск, Россия), 2 мкл (25 mM) MgCl₂, 0,15 мкл (5u/μl) *Taq*-полимеразы (ООО «Биосан», г. Новосибирск, Россия), 7,15 мкл вода стерильная.

Таблица 1 – Перечень линий сахарной свеклы

№	Номер каталога	Наименование	Гибрид/линия	Плоидность	Происхождение
1	2223	СОАН-5	линия	диплоид	Россия-Казахстан
2	2262	СОАН-22	линия	диплоид	Россия-Казахстан
3	2128	СОАН-98	линия	диплоид	Россия-Казахстан
4	2094	Ян-40	линия	диплоид	Польша – Казахстан
5	2217	Вп-24	линия	диплоид	Украина-Казахстан
6	2144	Вп-44	линия	диплоид	Украина-Казахстан
7	2182	2698/1-9	линия	диплоид	Казахстан
8	2210	2698/1-9РЦ	линия	диплоид	Казахстан
9	2221	SEM	линия	диплоид	Россия-Казахстан
10	2285	Ирис A ₀	апозиготическая линия	триплоид	Казахстан
11	2241	Ирис A2		триплоид	Казахстан
12	2286	Ленора A ₀	апозиготическая линия	триплоид	Казахстан
13	2240	Ленора A ₁		триплоид	Казахстан
14	2291	ЧС 97	линия	диплоид	Украина
15	2333	ЧС 1611	линия	диплоид	Украина
16	2334	ЧС 1631	линия	диплоид	Украина
17	2335	МС – 7	линия	диплоид	Россия
18	2336	МС- 1949	линия	диплоид	Россия
19	2337	0-тип	линия	диплоид	Казахстан
20	2338	Тетраплоид СЦ	линия	тетраплоид	Казахстан

Для проведения полимеразной цепной реакции применяли следующие температурные режимы: 94°C-3мин, 30 циклов (94°C-30с, 53°C- 30 с., 72°C- 60 с), 72°C-3 мин.

Разделение продуктов амплификации проводили в 8 %-ом полиакриламидном геле («Merck», Германия) окрашенных бромистым этидием. Визуализацию продуктов амплификации проводили в геледокументирующей камере (Quantum ST 4, Франция). В качестве маркеров молекулярных весов использовали ДНК маркер «Step50» plus (ООО «Биолабмикс», Россия, г. Новосибирск),

Идентификацию размеров ПЦР фрагментов проводили в геледокументирующей системе Quantum-ST4 (Франция).

Индекс информативности маркеров PIC (*polymorphism information content*) вычисляли по формуле (Rold'an-Ruiz I. et. al., 2000): $PIC_i = 2f_i(1 - f_i)$, где PIC_i – полиморфное информационное содержание маркера «i», f_i – частота амплифицированного аллеля (полоса присутствует) и (1 – f_i) частота нулевого аллеля (полоса отсутствует)».

Результаты исследований и обсуждение

При получении гетерозисных гибридов селекционеры используют константные (гомозиготные) исходные линии с высокой комбинационной способностью. Выровненные линии сахарной свёклы получают путём многократно повторяющегося отбора самоопылённых линий [29, 30]. Для оценки генетической однородности 20 линий сахарной свеклы, используемых в качестве компонентов гибридов были изучены 20 отдельных индивидуальных растения по 3 SSR – маркерам (Bvv 21, Bvv53, Bvv 155).

По изучаемым SSR-маркерам выявлен полиморфизм микросателлитных локусов линий сахарной свеклы. Наибольшее количество аллелей (4) было детектировано у маркера Bvv 53 (рисунок 1). Значение PIC по маркерам составило: Bvv21 – 0,30%, Bvv53 – 0,23%, Bvv155 – 0,20%.

Анализ ДНК спектров в разрезе индивидуальных растений показал, что изучаемые линии сахарной свеклы не достаточно однородны (таблица 2). Гетерогенность по всем трем мар-

керам зафиксирована по таким образцам как О-тип, Вп-24, ЯН-40, СОАН-98, Ирис А₀ (рисунок 2а). Это видно, связано с трудностями ведения селекции сахарной свеклы как перекрестно-опыляемой культуры и необходимости проведения постоянного контроля за чистотой получения самофертильных линий – опылителей, закрепителей стерильности и поддержания ЦМС – форм. Генетическая неоднородность и отличия отдельных индивидуальных растений внутри сортов и линий сахарной свеклы так же были отмечены в исследованиях таких авторов как Riek J. с соавт, по оценке сахарной свеклы по различимости, однородности стабильности с помощью данных AFLP [31], Федуловой Т.П.

и с соавт, в работе по возможности применения SSR-маркеров для оценки однородности образцов сахарной свеклы [32], Шилова И.А. по оценке МС-линий, линий О-типа, линий-опылителей с использованием микросателлитных маркеров [33]. Отсутствие генетической однородности и выровненности среди линий сахарной свеклы, используемой в качестве компонентов гибридов приводит к получению не однородных гибридов F₁. Неоднородность коммерческих гибридов является проблемой, не позволяющей пройти данным гибридам тестирование на отличимость, однородность и стабильность (DUS – Distinctness, Uniformity and Stability) [31].

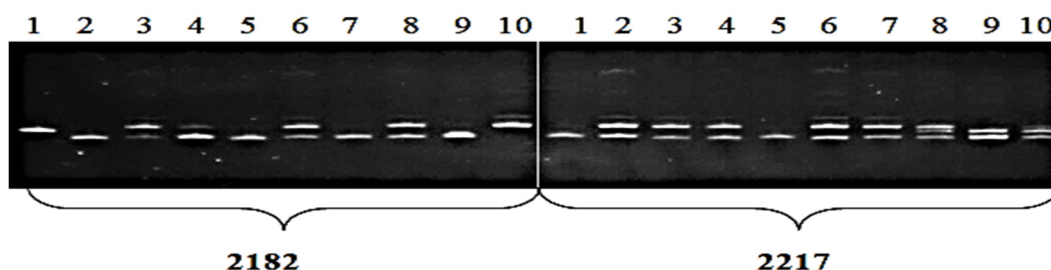


Рисунок 1 – Электрофореграммы линий сахарной свеклы по SSR-маркеру Bvv53

Таблица 2 – Результаты оценки линии сахарной свеклы на однородность с использованием SSR маркеров

№	Наименование	Bvv21		Bvv53		Bvv155	
		Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей	Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей	Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей
1	2698/1-9	250, 285	70/30	185, 216, 185/216, 216/250	40/10/40/10	250, 298, 200/298, 250/298	10/40/10/40
2	Вп-24	250, 285, 250/285	30/30/40	185, 185/200, 185/200/216, 185/216/250	20/20/10/50	250, 298, 250/298	10/60/30
3	О-тип	250, 285, 250/285	20/50/30	185, 216, 185/200, 185/250, 200/216	50/10/20/10/10	250, 298, 200/298, 250/298	10/60/10/20
4	Ленора А ₀	250, 285	20/80	185, 185/200, 185/250	70/20/10	298	100
5	Ирис А ₀	250, 285	80/20	185, 200, 185/200	50/10/40	250, 298, 200/298, 250/298	10/50/10/30
6	Тетраплоид СЦ	250, 285	80/20	185, 185/200, 185/216, 200/216	60/10/20/10	250, 298, 200/298, 250/298	20/60/10/10
7	Ирис А ₂	250, 285	20/80	185, 185/200, 185/250, 200/250	40/30/20/10	298, 250/298	90/10
8	СОАН-22	250, 285	50/50	185, 185/216	80/20	298	100

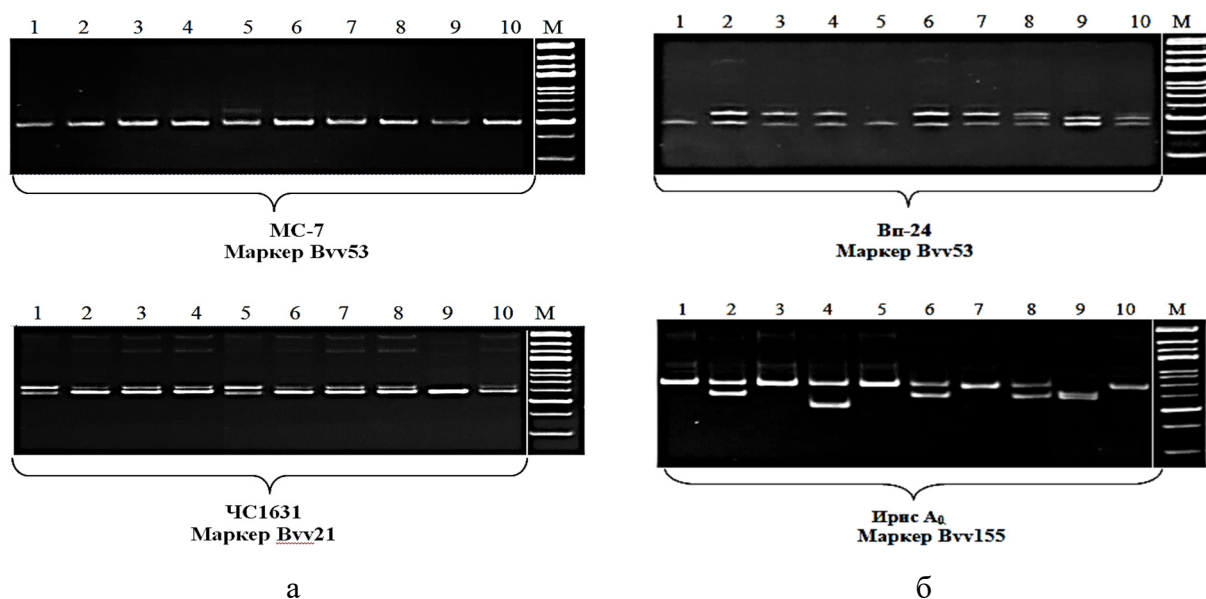
№	Наименование	Bvv21		Bvv53		Bvv155	
		Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей	Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей	Длина ПЦР продукта, п.н.	% встречаемости аллелей
9	Ленора А ₁	250, 285, 250/400	40/40/20	185, 185/200, 185/216	60/10/20	298, 200/298, 250/298	70/10/20
10	СОАН-98	250, 285, 250/285	20/50/30	185, 200, 216, 185/250	50/30/10/10	298, 200/250, 250/298	70/10/20
11	Ян-40	250, 285, 250/285	10/20/70	185, 200, 185/200, 185/216	20/40/20/20	298, 250/298	70/30
12	Вп-44	285, 250/285	70/30	185	100	298, 200/298, 200/250/298, 250/298	40/10/20/30
13	МС-7	250, 285, 250/285	10/80/10	185	100	298	100
14	2698/1-9РЦ	250, 285, 250/285	20/20/60	185	100	200, 298, 200/298, 250/298	10/60/10/20
15	СОАН-5	250, 285, 250/285	10/40/50	185/200	100	298, 250/298	80/20
16	SEM	250, 285, 250/285	20/50/30	185/200	100	298, 250/298	40/60
17	ЧС-1611	250, 285, 250/285	20/10/70	185/200	100	298, 250/298	20/80
18	ЧС-1631	250/285	100	185/200	100	298	100
19	ЧС-97	285, 250/285	50/50	185/200	100	298, 250/298	30/70
20	МС-1949	250, 285, 250/285	30/60/10	185	100	298	100

Наибольшая однородность отдельных индивидуальных растений внутри линии по трем маркерам (100%) была отмечена по ЦМС линии ЧС-1631 (Украина), по двум маркерам у линий МС-7, МС-1949 (Россия), рисунок 2а, таблица 2. Однородность таких ЦМС-линий сахарной свеклы достигается множественными возвратными скрещиваниями с линиями О-типа. Так же достаточно высокую однородность показали апозиготическая линия Ленора А₀ по трем маркерам (70-100%), ВП-44 по трем маркерам 60-100%, СОАН-22 по двум маркерам (80-100%), таблица 2.

Важность и надежность использование молекулярных маркеров для оценки однородности и стабильности генотипов отмечается многими исследователями [34, 35, 36, 37]. Генетическая характеристика с помощью молекулярных маркеров является воспроизводимым инструментом идентификации в отличие от морфологической. Известно, что некоторые

морфологические маркеры не дают четких результатов при изменении условий окружающей среды, поэтому их применение является не достаточным [387, 398].

В связи с необходимостью получения однородных гибридов сахарной свеклы использование ДНК-маркеров в гибридной селекции должно стать неотъемлемой частью селекционного процесса. Это широко практикуется в крупных селекционных центрах по созданию гибридов сахарной свеклы на ЦМС основе. Однако их использование в отечественных селекционных программах ограничивается низким финансированием. ЦМС-формы, выделенные в наших исследованиях как чистые линии (ЧС-1631, МС-7, МС-1949) должны поддерживаться в чистоте. Для линий-опылителей, линий стабилизаторов однородности, показавших гетерогенность требуется тщательная очистка и браковка с использованием морфологических и ДНК – маркеров.



а – линии МС-7, ЧС1631, показавшие однородность; б – линии ВП-24, Ирис А0, показавшие гетерогенность

Рисунок 2 – Результаты оценки однородности линий сахарной свеклы с использованием SSR-маркеров

Большинство исследований по использованию ДНК-маркеров в селекционном процессе направлены на оценку генетического разнообразия, отдаленности или близости линий с целью подбора родительских пар для скрещивания и получения гетерозисного эффекта [23, 26, 33, 40]. В наших исследованиях в связи с неоднородностью линейного материала кластеризация полученных результатов не была произведена.

Заключение

В результате генетического анализа 20 линий сахарной свеклы высокая степень однородности выявлена у 3 –х ЦМС линий (ЧС-1631, МС-7, МС-1949), полученных из Института биоэнергетических культур и сахарной свеклы (г. Киев, Украина) и ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свёклы и сахара имени А.Л. Мазлумова» (г. Рамонь, Россия). Данные линии рекомендуются как выровненные для использования в качестве материнских форм при создании новых гибридов в отечественных программах селекции.

Достаточно высокую однородность в пределах 60-100% показали линии Ленора А₀, ВП-44 и СОАН-22.

60% проанализированных линий сахарной свеклы характеризовались средней и низкой степенью однородности.

Использование SSR-маркеров позволяет давать генетическую характеристику каждой линии, обеспечивает оценку генетической выравненности и однородности. Для линий-опылителей, линий стабилизаторов однородности, показавших гетерогенность рекомендуется дополнительная очистка с использованием морфологических и ДНК-маркеров. При поддержании генетической чистоты самоопыленных линий сахарной свеклы необходимо введение контроля с использованием ДНК-маркеров.

Конфликт интересов

Все авторы прочитали и ознакомлены с содержанием статьи и не имеют конфликта интересов.

Финансирование

Исследования выполнены в рамках бюджетной программы 217 Комитета науки МОН РК по проекту ИРН АР08956877 «Пополнение, обогащение генофонда сахарной свеклы (*Beta vulgaris*) и изучение его генетического разнообразия с использованием молекулярных маркеров».

Литература

- 1 Официальный сайт Корпоративной статистической базы данных Продовольственной и сельскохозяйственной организации ФАО <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>.
- 2 Olmos J.C., Hansen Zúñiga M.E. Enzymatic depolymerization of sugar beet pulp, production and characterization of pectin and pectic-oligosaccharides as a potential source for functional carbohydrates // *Chem Eng J.* – 2012. – Vol. 192. – P. 29–36. Doi.org/10.1016/j.cej.2012.03.085.
- 3 Kracher D., Oros D., Yao W., Preims M., Rezić I., Haltrich D., et al. Fungal secretomes enhance sugar beet pulp hydrolysis // *Biotechnol J.* – 2014. – Vol. 9. – P. 483–92. Doi.org/10.1002/biot.201300214.
- 4 Rodriguez L.A., Toro M.E., Vazquez F., Correa-Daner M.L., Gouiric S.C., Vallejo MD. Bioethanol production from grape and sugar beet pomaces by solid-state fermentation // *Int J Hydrogen Energy.* – 2010. – Vol. 35. – P. 5914–7. Doi.org/10.1016/j.ijhydene.2009.12.112
- 5 Maung T.A., Gustafson C.R. The economic feasibility of sugar beet biofuel production in central North Dakota // *Biomass Bioenergy.* – 2011. – Vol. 35. – P. 3737–47. Doi.org/10.1016/j.biombioe.2011.05.022.
- 6 Fenart S., Arnaud J.F., De Cauwer I., Cuguen J. Nuclear and cytoplasmic genetic diversity in weed beet and sugar beet accessions compared to wild relatives: New insights into the genetic relationships within the *Beta vulgaris* complex species // *Theor Appl Genet.* – 2008. – Vol. 116. – P. 1063–1077.
- 7 McGrath M., Derrico A., Yu Y. Genetic diversity in selected, historical US sugarbeet germplasm and *Beta vulgaris* ssp. *Martima* // *Theor Appl Genet.* – 1999. – Vol. 98. – P. 968–976. Doi.org/10.1007/s001220051157.
- 8 Geidel H., Weber W.E., Mechelke W., Haufe W. Selection for sugar yield in sugar beet, *Beta vulgaris*, using different selection indices // *Plant Breed.* – 2000. Vol. 119. – P. 188–90. Doi.org/10.1046/j.1439-0523.2000.00476.x.
- 9 Smulders M.J., Esselink G.D., Everaert I., De Riek J., Vosman B. Characterisation of sugar beet (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris*) varieties using microsatellite markers // *BMC Genet.* – 2010. – Vol. 11. – P. 41–52 Doi.org/10.1186/1471-2156-11-41
- 10 You Q., Pan Y.B., Xu L.P., Gao S.W., Wang Q.N., Su Y.C., et al. Genetic diversity analysis of sugarcane germplasm based on fluorescence-labeled simple sequence repeat markers and a capillary electrophoresis-based genotyping platform // *Sugar Tech.* – 2016. – Vol. 18. – P. 380–90. Doi.org/10.1007/s12355-015-0395-9.
- 11 Budak H., Shearman R.C., Gulsen O., Dweikat I. Understanding ploidy complex and geographic origin of the *Buchloe dactyloides* genome using cytoplasmic and nuclear marker systems // *Theor Appl Genet.* – 2005. – Vol. 111. – P.545–552 Doi.org/10.1007/s00122-005-0083-3.
- 12 Akpınar B.A., Lucas S., Budak H. A large-scale chromosome-specific SNP discovery Guideline // *Funct Integr Genomics.* – 2017. – Vol.17. – P. 97–105. Doi.org/10.1007/s10142-016-0536-6.
- 13 Ghasemi A.R., Golparvar A.R., Isfahani M.N. Analysis of genetic diversity of sugar beet genotypes using random amplified polymorphic DNA marker // *Genetika.* – 2014. – Vol. 46, Issue 3. – P. 975–984 Doi.org/10.2298/GENSR1403975G.
- 14 Izzatullayeva Y., Akparov Z., Babayeva S., Ojaghi J., Abbasov M. Efficiency of using RAPD and ISSR markers in evaluation of genetic diversity in sugar beet // *Turkish Journal of Biology.* – 2014. – Vol. 38. - P. 429–438. doi:10.3906/biy-1312-35
- 15 Schondelmaier J., Steinrücken G., Jung G. Integration of AFLP Markers into a linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) // *Plant Breed.* – 1996. – Vol. 115. – P. 231–7. Doi.org/10.1111/j.1439-0523.1996.tb00909.x.
- 16 McGrath M., Trebbi D., Fenwick A., Panella L., Schulz B., Laurent V., et al. An open-source first-generation molecular genetic map from a sugar beet × table beet cross and its extension to physical mapping // *Crop Sci* – 2007. – Vol. 47. – P. 27–44. Doi.org/10.2135/cropsci2006-05-0339tpg.
- 17 Uphoff H., Wricke G. A genetic map of sugar beet (*Beta vulgaris*) based on RAPD markers // *Plant Breed.* – 1995. – Vol. 114. – P.355–357. Doi.org/10.1111/j.1439-0523.1995.tb01249.x.
- 18 Nagl N., Taški-Ajduković K., Popović A., Čurčić Ž., Danojević D., Kovačev L. Estimation of genetic variation among related sugar beet genotypes by using RAPD // *Genet Belgrade.* – 2011. – Vol. 43. – P. 575–582 Doi.org/10.2298/GENSR1103575N.
- 19 Schneider K., Kulosa D., Rosleff-Soerensen T., Moehring S., Heine M., Durstewitz G., et al. Analysis of DNA polymorphisms in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and development of an SNP-based map of expressed genes // *Theor Appl Genet.* – 2007. – Vol.115. – P. 601–615. Doi.org/10.1007/s00122-007-0591-4.
- 20 Stevanato P., Broccanello C., Biscarini F., Del Corvo M., Sablok G., Panella L., et al. Highthroughput RAD-SNP genotyping for characterization of sugar beet genotypes // *Plant Mol Biol Report.* – 2014. – Vol. 31. – P. 691–696. Doi.org/10.1007/s11105-013-0685-x.
- 21 Laurent V., Devaux P., Thiel T., Viard F., Mielordt S., Touzet P., et al. Comparative effectiveness of sugar beet microsatellite markers isolated from genomic libraries and GenBank ESTs to map the sugar beet genome // *Theor Appl Genet.* – 2007. – Vol. 115. – P. 793–805. Doi.org/10.1007/s00122-007-0609-y.
- 22 Agarwal M., Shrivastava N., Padh H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences // *Plant Cell Rep.* – 2008. – Vol.27. – P.617–631. Doi.org/10.1007/s00299-008-0507-z.
- 23 Li J., Schulz B., Stich B. Population structure and genetic diversity in elite sugar beet germplasm investigated with SSR markers // *Euphytica.* – 2010. – Vol.175. – P. 35–42. Doi.org/10.1007/s10681-010-0161-8.
- 24 Simko I., Eujayl I., Hintum T.J.L. Empirical evaluation of DArT, SNP, and SSR marker-systems for genotyping, clustering, and assigning sugar beet hybrid varieties into population // *Plant Sci.* – 2012. – Vol. 184. – P.54–62. Doi.org/10.1016/j.plantsci.2011.12.009.
- 25 Abbasi Z., Arzani A., Majidi M.M. Evaluation of genetic diversity of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) crossing parents using agro-morphological traits and molecular markers // *J Agric Sci Technol.* – 2014. – Vol.16. – P.1397–1411.

- 26 Налбалдян А.А., Хуссейн А.С., Федулова Т.П., Черепухина И.В., Крюкова Т.И., Руденко Т.С., Михеева Н.Р., Мотсеенко А.В. Дифференциация сортообразцов сахарной свеклы по SSR-маркерам для создания перспективных гибридов // *Российская сельскохозяйственная наука*. – 2020. – №4. – С. 18-21 Doi: 10.31857/S2500262720040043.
- 27 Абеева А.М., Конибеков К.Т., Эржебаева Р.С., Бастаубаева Ш.О., Мукин К.Б., Азимбек Н.И. Изучение полиморфизма у гибридов и линий сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.) с помощью RAPD – праймеров // *Сахарная свекла*. – 2017. – №9. – С.32-38.
- 28 Delaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA miniprep. Version II // *Plant Molecular Biology Reporter*. – 1983. – Vol. 4. – P. 19-21.
- 29 Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П., Колесникова Е.О. Ускоренное получение новых гомозиготных линий сахарной свеклы (*B. vulgaris* L.) // *Сахар*. – 2020. – № 2. – С. 30–32.
- 30 Мищенко В.Н., Логвинов В.А., Логвинов А.В., Караева Н.В., Корсун Р.Н., Райлян Р.Н. Теоретические и практические аспекты использования цитоплазматической мужской стерильности сахарной свеклы // *Сахарная свекла*. – 2016. – № 1. – С. 16–19.
- 31 Riek J., Calsyn E., Everaert I., Bockstaele E. V. & M. De Loose AFLP based alternatives for the assessment of Distinctness, Uniformity and Stability of sugar beet varieties // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2001. – Vol. 103. – P.1254–1265 Doi.org/10.1007/s001220100710.
- 32 Федулова Т.П., Федорин Д.Н., Козловская В.Ф. ДНК – технологии в селекции сахарной свеклы (*Beta vulgaris* L.): современное состояние и перспективы развития // *Сахарная свекла*. – 2015. – №10. – С.11-14.
- 33 Шилев И.А., Анискина Ю.В., Шалаева Т.А., Колобова О.С., Велишаева Н.С., Мищенко В.Н., Логинов А.В. Создание современных гибридов сахарной свеклы с применением микросателлитного анализа // *Сахар*. – 2020. – №8. – С.27-31 Doi.org/10.24411/2413-5518-2020-10804.
- 34 Kwon Y.Sh., Lee J.M., Yi G.B., Yi S.I., Kim K.M., Soh E.H., Bae K.M., Park E.K., Song I.H., Kim B.D. Use of SSR Markers to Complement Tests of Distinctness, Uniformity, and Stability (DUS) of Pepper (*Capsicum annuum* L.) Varieties // *Mol. Cells*. – 2005. – Vol. 19, No. 3. – P. 1-8.
- 35 He B., Geng R., Cheng L., Yang X., Ge H., Ren M. Genetic diversity and fingerprinting of 33 standard flue-cured tobacco varieties for use in distinctness, uniformity, and stability testing // *BMC Plant Biol*. – 2020. – Vol.20. – P.378. Doi.org/10.1186/s12870-020-02596-w
- 36 Wang Y.P., Li H.Y., Shen Q., Zhang J.H., Wang P., Wu Y. Molecular markers associated with rice (*Oryza sativa* L.) traits in DUS testing // *Jiangsu J Agric Sci*. – 2013. – Vol.29. – P. 231–239.
- 37 Cooke R., Bredemeijer G., Ganal M., Peeters R., Isaac P., Rendell S., Jackson J., Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Areshchenkova T., Dijcks M., Laborie D., Bertrand L. & Vosman B. Assessment of the uniformity of wheat and tomato varieties at DNA microsatellite loci // *Euphytica*. – 2003. – Vol.32. – P.331–341 Doi.org/10.1023/A:1025046919570.
- 38 Mohammadian R., Moghaddam M., Rahimian H., Sadeghian S.Y. Effect of Early Season Drought Stress on Growth Characteristics of Sugar Beet Genotypes // *Turk J Agric For*. – 2005. – Vol. 29. – P. 357-368.
- 39 Васильченко Е.Н., Жужжалова Т.П. Изменчивость морфологических и биохимических признаков межвидовых гибридов свеклы // *Сахарная свекла*. – 2010. – №1. – С.18-21.
- 40 Taški-Ajduković K., Nagl N., Čurčić Ž, Miroslav Zorić M. Estimation of genetic diversity and relationship in sugar beet polinators based on SSR markers // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 2017. – Vol.27. – P.1-7. Doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.02.001.

References

- 1 Abbasi Z., Arzani A., Majidi M.M. (2014) Evaluation of genetic diversity of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) crossing parents using agro-morphological traits and molecular markers. *J Agric Sci Technol.*, vol. 146, pp. 1397-1411.
- 2 Abekova A.M., Konyzbekov K.T., Erzhebaeva R.S., Bастаубаева Sh.O., Mukin K.B., Azimbek N.I. (2017) Izuchenie-polimorfizma u gibridov i linij sakharnoj svekly (*Beta vulgaris*) s pomoshchyu RAPD-prajmerov [Study of polymorphism in hybrids and lines of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) using RAPD primers] *Sakharnaya svekla*, no.9, pp. 32-38.
- 3 Agarwal M., Shrivastava N., Padh H. (2008) Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. *Plant Cell Rep.*, vol. 27, pp. 617-631.
- 4 Akpinar B.A., Lucas S., Budak H. (2017) A large-scale chromosome-specific SNP discovery Guideline. *Funct Integr Genomics*, vol.17, pp. 97-105.
- 5 Budak H., Shearman R.C., Gulsen O., Dweikat I. (2005) Understanding ploidy complex and geographic origin of the *Buchloe dactyloides* genome using cytoplasmic and nuclear marker systems. *Theor Appl Genet.*, vol.111, pp.545-552.
- 6 Cooke R., Bredemeijer G., Ganal M., Peeters R., Isaac P., Rendell S., Jackson J., Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Areshchenkova T., Dijcks M., Laborie D., Bertrand L. & Vosman B. (2003) Assessment of the uniformity of wheat and tomato varieties at DNA microsatellite loci. *Euphytica*, vol.32, pp.331–341 Doi.org/10.1023/A:1025046919570.
- 7 Delaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. (1983) A plant DNA miniprep. Version II, *Plant Molecular Biology Reporter*, vol. 4, pp. 19-21.
- 8 Fedulova T.P., Fedorin D.N., Kozlovskaya V. F. (2015) DNK tekhnologii v selekci sakharnoj svekly (*Beta vulgaris* L) sovremennoe sostoyanie i perspektivy razvitiya [DNA technologies in the selection of sugar beet (*Beta vulgaris* L.): current state and prospects of development]. *Sakharnaya svekla*, no.10, pp. 11-14

- 9 Fenart S., Arnaud J.F., De Cauwer I., Cuguen J. (2008) Nuclear and cytoplasmic genetic diversity in weed beet and sugar beet accessions compared to wild relatives: New insights into the genetic relationships within the *Beta vulgaris* complex species. *Theor Appl Genet.*, vol. 116, pp. 1063-1077.
- 10 Geidel H., Weber W.E., Mechelke W., Haufe W. (2000) Selection for sugar yield in sugar beet, *Beta vulgaris*, using different selection indices. *Plant Breed.*, no. 119, pp. 188-90.
- 11 Ghasemi A.R., Golparvar A.R., Isfahani M.N. (2014) Analysis of genetic diversity of sugar beet genotypes using random amplified polymorphic DNA marker. *Genetika*, vol.46, pp. 975-984.
- 12 He B., Geng R., Cheng L., Yang X., Ge H., Ren M. (2020) Genetic diversity and fingerprinting of 33 standard flue-cured tobacco varieties for use in distinctness, uniformity, and stability testing. *BMC Plant Biol.*, vol.20, pp.378. Doi.org/10.1186/s12870-020-02596-w.
- 13 Izzatullayeva Y., Akparov Z., Babayeva S., Ojaghi J., Abbasov M. (2014) Efficiency of using RAPD and ISSR markers in evaluation of genetic diversity in sugar beet. *Turkish Journal of Biology*, vol.38, pp. 429-438.
- 14 Kracher D., Oros D., Yao W., Preims M., Rezić I., Haltrich D., et al. (2014) Fungal secretomes enhance sugar beet pulp hydrolysis. *Biotechnol J.*, vol. 9, pp. 483-92.
- 15 Kwon Y.Sh., Lee J.M., Yi G.B., Yi S.I., Kim K.M., Soh E.H., Bae K.M., Park E.K., Song I.H., Kim B.D. (2005) Use of SSR Markers to Complement Tests of Distinctiveness, Uniformity, and Stability (DUS) of Pepper (*Capsicum annum L.*) Varieties. *Mol. Cells*, vol. 19, No. 3, pp. 1-8.
- 16 Laurent V., Devaux P., Thiel T., Viard F., Mielordt S., Touzet P., et al. (2007) Comparative effectiveness of sugar beet microsatellite markers isolated from genomic libraries and GenBank ESTs to map the sugar beet genome. *Theor Appl Genet.*, vol. 115, pp. 793-805.
- 17 Li J., Schulz B., Stich B. (2010) Population structure and genetic diversity in elite sugar beet germplasm investigated with SSR markers. *Euphytica*, vol. 175, pp. 35-42.
- 18 Maung T.A., Gustafson C.R. (2011) The economic feasibility of sugar beet biofuel production in central North Dakota. *Biomass Bioenergy*, vol. 35, pp.3737-47.
- 19 McGrath M., Derrico A., Yu Y. (1999) Genetic diversity in selected, historical US sugarbeet germplasm and *Beta vulgaris* ssp. *Maritima*. *Theor Appl Genet.*, vol. 98, pp. 968-976.
- 20 McGrath M., Trebbi D., Fenwick A., Panella L., Schulz B., Laurent V., et al. (2007) An open-source first-generation molecular genetic map from a sugar beet × table beet cross and its extension to physical mapping. *Crop Sci.*, vol. 47, pp. 27-44.
- 21 Mishchenko V.N., Logvinov V.A., Logvinov A.V., Karaeva N.V., Korsun R.N., Rajlyan R.N. (2016) Teoreticheskie i prakticheskie aspekty ispolzovaniya citoplazmicheskoj muzhskoj sterilnosti sakharnoj svyokly [Theoretical and practical aspects of the use of cytoplasmic male sterility of sugar beet]. *Sakharnaya svyokla*, no.1, pp.16-19.
- 22 Mohammadian R., Moghaddam M., Rahimian H., Sadeghian S.Y. (2005) Effect of Early Season Drought Stress on Growth Characteristics of Sugar Beet Genotypes. *Turk J Agric For.*, vol. 29, pp. 357-368.
- 23 Nagl N., Taški-Ajduković K., Popović A., Čurčić Ž., Danojević D., Kovačev L. (2011) Estimation of genetic variation among related sugar beet genotypes by using RAPD. *Genet Belgrade.*, vol. 43, pp. 575-582.
- 24 Nalbaldyan A. A., Khussejn A.S., Fedulova T.F., Cherepukhina I.V., Kryukova T.I., Rudenko T.S., Mikheeva N.P., Motseenko A.V. (2020) Differenciaciya sortoobrazcov sakharnoi svyokly po SSR-markeram dlya sozdaniya perspektivnykh gibridov [Differentiation of sugar beet cultivars by SSR markers to create promising hybrids]. *Rossijskaya selskokhozyajstvennaya nauka*, no.4, pp. 18-21.
- 25 Oficialnyi sait korporativnoi statisticheskoi bazy dannykh prodovolstvennoi i selskokhozyaistvennoi organizacii FAO [Statistics of the food and agriculture organization of the United Nations FAO] <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>
- 26 Olmos J.C., Hansen Zúñiga ME. (2012) Enzymatic depolymerization of sugar beet pulp, production and characterization of pectin and pectic-oligosaccharides as a potential source for functional carbohydrates. *Chem Eng J.*, vol. 192, pp. 29-36.
- 27 Riek J., Calsyn E., Everaert I., Bockstaele E. V., De Loose M. (2001) AFLP based alternatives for the assessment of Distinctness, Uniformity and Stability of sugar beet varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 103, pp. 1254-1265.
- 28 Rodriguez L.A., Toro M.E., Vazquez F., Correa-Daneri M.L., Gouiric S.C., Vallejo M.D. (2010) Bioethanol production from grape and sugar beet pomaces by solid-state fermentation. *Int J Hydrogen Energy*, no. 35, pp.5914-7.
- 29 Schneider K., Kulosa D., Rosleff-Soerensen T., Moehring S., Heine M., Durstewitz G., et al. (2007) Analysis of DNA polymorphisms in sugar beet (*Beta vulgaris L.*) and development of an SNP-based map of expressed genes. *Theor Appl Genet.*, vol. 115, pp. 601-615.
- 30 Schondelmaier J., Steinrücken G., Jung G. (1996) Integration of AFLP Markers into a linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris L.*). *Plant Breed.*, vol.115, pp. 231-7.
- 31 Shilov A.I., Aniskina Yu V., Shalaeva T.A., Kolobova O.S., Velishaeva N.S., Mishchenko V.N., Loginov A.V. (2020) Sozdanie sovremennykh gibridov sakharnoj svyokly s primeneniem mikrosatellitnogo analiza [Creation of modern sugar beet hybrids using microsatellite analysis]. *Sakhar*, no.8, pp. 27-31.
- 32 Simko I., Eujayl I., Hintum T.J.L. (2012) Empirical evaluation of DArT, SNP, and SSR marker-systems for genotyping, clustering, and assigning sugar beet hybrid varieties into population. *Plant Sci.*, vol. 184, pp. 54-62.
- 33 Smulders M.J., Esselink G.D., Everaert I., De Riek J., (2010) Vosman B. Characterisation of sugar beet (*Beta vulgaris L. ssp. vulgaris*) varieties using microsatellite markers. *BMC Genet.*, vol. 11, pp. 41-52.
- 34 Stevanato P., Broccanello C., Biscarini F., Del Corvo M., Sablok G., Panella L., et al. (2014) Highthroughput RAD-SNP genotyping for characterization of sugar beet genotypes. *Plant Mol Biol Report.*, vol. 31, pp. 691-696.

35 Taški-Ajduković K., Nagl N., Ćurčić Ž, Miroslav Zorić M. (2017) Estimation of genetic diversity and relationship in sugar beet pollinators based on SSR markers. *Electronic Journal of Biotechnology*, vol.27, pp.1-7. Doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.02.001.

36 Uphoff H., Wricke G. (1995) A genetic map of sugar beet (*Beta vulgaris*) based on RAPD markers. *Plant Breed.*, vol. 114, pp. 355-357.

37 Vasilchenko E.N., Zhuzhhalova T.P. (2010) *Izmenchivost morfologicheskikh i biokhimicheskikh priznakov mezhydovnykh gibridov svekly* [Variability of morphological and biochemical characteristics of interspecific beet hybrids]. *Sakharnaya svekla*, no.1, pp.18-21

38 Vasilchenko E.N., Zhuzhhalova T.P., Kolesnikova E.O. (2020) *Uuskorennoe poluchenie novykh gomozigotnykh linij sakharnoj svyokly (B. vulgaris L.)* [Accelerated production of new homozygous sugar beet lines (*B. vulgaris L.*)]. *Sakhar*, no.2, pp.30-32.

39 Wang Y.P., Li H.Y., Shen Q., Zhang J.H., Wang P., Wu Y. (2013) Molecular markers associated with rice (*Oryza sativa L.*) traits in DUS testing. *Jiangsu J Agric Sci*, vol. 29, pp. 231–239.

40 You Q., Pan Y.B., Xu L.P., Gao S.W., Wang Q.N., Su Y.C., et al. (2016) Genetic diversity analysis of sugarcane germplasm based on fluorescence-labeled simple sequence repeat markers and a capillary electrophoresis-based genotyping platform. *Sugar Tech.*, vol. 18, pp. 380-90.