

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МАРКЕРНОГО ПРИЗНАКА В СЕЛЕКЦИИ КОЗЛЯТНИКА ВОСТОЧНОГО (*GALEGA ORIENTALIS* LAM.)

В.Н. Золотарев, кандидат сельскохозяйственных наук, **И.А. Клименко**, кандидат сельскохозяйственных наук, **В.М. Косолапов**, доктор сельскохозяйственных наук, академик РАН, **В.Л. Коровина**, старший научный сотрудник, **Антонов А.А.**, младший научный сотрудник

Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии
имени В.Р. Вильямса,
141055, Московская обл., Лобня, ул. Научный городок, корп. 1
E-mail: semvik@vniikormov.ru

По состоянию на 2021 г. в Государственном реестре селекционных достижений зарегистрировано 17 сортов козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.). Все они были созданы методами массового и индивидуального отбора для конкретных условий из интродуцированных дикорастущих популяций или сорта Гале. В результате использования исходного материала на основе общей генетической базы большинство из них по морфологическим характеристикам в целом однотипны. В связи с этим очень актуальны проблемы идентификации сортов, защиты авторских прав и апробации семенных посевов для селекционеров. Существенно упростить ее решение может выведение сортов с маркерными морфологическими признаками. Одновременно в последние годы возрастает значение современных методов, основанных на использовании молекулярных ДНК-маркеров, как дополнение к традиционным способам оценки селекционного и сортового материала. Цель исследований – создать сорт козлятника восточного с маркерным фенотипическим признаком и провести молекулярно-генетический анализ по выявлению информативных ДНК-маркеров для сортовой идентификации. Для решения поставленной задачи из популяции сорта Гале были выделены растения с различной окраской цветков. Методом последовательного репродуктивного потомства в нескольких поколениях и негативного отбора, удалось стабилизировать розовоцветковую и белоцветковую популяции. В потомстве козлятника с розовой окраской цветков этот признак сохраняли 98 % растений. После конкурсного испытания популяция была зарегистрирована как сорт козлятника Вест с маркерным морфотипическим признаком. По кормовой и семенной продуктивности сорт Вест превосходит сорт Гале на 15...34 %. ПЦР-анализ с использованием 10 пар SSRs и 6...8 комбинаций SRAP-праймеров, в сравнении с синецветковой и белоцветковой популяциями, позволил определить две информативные комбинации SRAP-маркеров – ME3-EM4 и ME3-EM2, которые можно использовать в качестве дополнительного инструмента при сортовой ДНК-идентификации и создании генетического паспорта нового сорта.

APPLICATION OF MARKER TRAIT IN BREEDING OF FORAGE GALEGA (*GALEGA ORIENTALIS* LAM.)

Zolotarev V.N., Klimenko I.A., Kosolapov V.M., Korovina V.L., Antonov A.A.

Federal Williams Research Center of Forage Production & Agroecology
141055, Moskovskaya obl., Lobnya, ul. Nauchnyi gorodok, korp. 1
E-mail: semvik@vniikormov.ru

As of 2021, 17 varieties of forage galega (*Galega orientalis* Lam.) were registered in the State Register of Breeding Achievements. All of them were created by methods of mass and individual selection for specific conditions from introduced wild populations or varieties of Gale. As a result of using the source material on the basis of a common genetic base, most of the available varieties are generally of the same type in morphological characteristics. The problem of identification of varieties, copyright protection and testing of seed crops for breeders is one of the most urgent. A significant simplification of the solution of this problem is the breeding of varieties with marker morphological features. Along with this, in recent years, the importance of modern methods based on the use of molecular DNA markers has been increasing as an addition to traditional methods of evaluating breeding and varietal material. The aim of the work is to create a forage galega variety with a marker phenotypic trait and to conduct a molecular genetic analysis to identify informative DNA markers for varietal identification. To solve this problem, plants with different flower colors were isolated from the population of the Gale variety. By the method of successive reproduction of offspring in several generations and negative selection, it was possible to stabilize the pink-flowered and white-flowered populations. It was found that 98% of plants retained this feature in the progeny of forage galega with pink flowers. This population, after a competitive trial, was registered as a forage galega West variety with a marker morphotypic feature. In terms of feed and seed productivity, the West variety exceeds the Gale variety by 15-34%. PCR analysis using 10 pairs of SSRs and 6-8 combinations of SRAP primers in comparison with blue-flowered and white-flowered populations allowed us to identify two informative combinations of SRAP markers ME3-EM4 and ME3-EM2, which can be used as an additional tool for varietal DNA identification and the creation of a genetic passport of a new variety.

Ключевые слова: козлятник восточный (*Galega orientalis* Lam.), сорт, маркерный фенотипический признак, окраска цветков, молекулярно-генетическая характеристика.

Key words: forage galega (*Galega orientalis* Lam.), variety, marker phenotypic trait, flowers color, molecular and genetic characteristic.

На современном этапе развития кормопроизводства дополнительное повышение эффективности этой отрасли возможно в результате более широкого вовлечения в процесс хозяйственного использования ценных в кормовом отношении, но еще малораспространенных культур, обладающих высоким потенциалом продуктивности, технологичностью, устойчивостью к абиотическим стрессам и способностью к адаптации в различных

почвенно-климатическим условиях. Козлятник восточный, или галега восточная (*Galega orientalis* Lam.) выделяется среди других бобовых трав рядом морфобиологических и биогеоценотических особенностей и относится к группе растений, обладающих высокой биологической продуктивностью и экологической пластичностью [1, 2, 3]. Эта культура характеризуется адаптивностью, устойчивостью и непрехотливостью, высокой конкурентной

способностью в травосмесях и выносливостью, морозо- и зимостойкостью, засухоустойчивостью, повышенной азотфиксирующей способностью [4, 5, 6]. Вследствие высокой способности к адаптации в различных условиях козлятник восточный может возделываться в широком диапазоне почвенно-климатических условий [7, 8, 9].

Одно из условий повышения эффективности хозяйственного использования козлятника восточного – перманентный процесс создания и расширения сортиamenta сортов, адаптированных к разным почвенно-климатическим условиям и технологическим требованиям. По состоянию на 2021 г. в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию на территории России, включено 17 сортов этой культуры. Первым с 1988 г. был зарегистрирован сорт Гале селекции ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса, выведенный массовым отбором из дикорастущей популяции, интродуцированной еще в 30-е гг. прошлого века из естественного ареала. В результате многолетнего отбора сформировалась популяция из наиболее акклиматизированных для условий Центрального Нечерноземья биотипов, которую в 1988 г. юридически оформили как сорт Гале [10]. В процессе культивирования семена популяции рассылали во многие научные учреждения и хозяйства по всей стране. Этот материал послужил основой для выведения новых сортов козлятника в разных агроклиматических зонах. Так, районированные сорта Горноалтайский 87, Ялгинский, Магистр и другие выведены методом массового отбора непосредственно из сорта Гале, полученного из коллекции ВНИИ кормов [10]. Сорта Кривич, Юбиляр и Талисман селекции Псковского НИИ сельского хозяйства также созданы с использованием исходного материала псковской репродукции сорта Гале [11]. Сорта Полеская, Нестерка, Садружнась, зарегистрированные в Госреестре Республики Беларусь, и сорта литовской селекции Vidmantai, Laukiai и Melsviai также получены методами массового и индивидуального отбора лучших растений из ранее интродуцированной популяции сорта [12, 13].

Козлятник восточный может быть классифицирован как культура с очень небольшим генетическим селекционным улучшением. Величина кормовой и семенной продуктивности районированных сортов галеги определяется в основном почвенно-климатическими условиями и технологиями возделывания, а не генетической базой [10]. Возделываемые ранее в производстве сорта галеги восточной в целом характеризуются незначительным разнообразием по морфологическим и хозяйственно-полезным признакам и свойствам. Фенотипически большинство сортов, созданных преимущественно методами отбора, характеризуются сине-фиолетовой окраской цветков и по этому признаку существенно не отличаются от растений из дикорастущих популяций [12].

В условиях рыночной конъюнктуры проблемы идентификации сортов, сохранения авторских прав, апробации семенных посевов и сбора роялти для селекционеров становятся очень актуальными. Сорт выступает в качестве рентаобразующего фактора, его создание требует существенных затрат времени, а также интеллектуальных и финансовых вложений [14]. Сорта относятся к важным объектам интеллектуальной собственности и жизненно важно, чтобы инновации в селекцию растений получали соответствующие материальные стимулы [15]. В связи с этим актуальна проблема разработки критериев новизны, отличности, однородности и стабильности (DUS) селекционных достижений в соответствии с конвенцией UPOV. Существенным упрощением решения этой задачи представляется селекция сортов с маркер-

ными признаками, которые визуалью легко и надежно определимы и проявляются независимо от влияния условий среды [16, 17].

На сегодняшний день на отдельных культурах расширяются работы по сбору коллекций и выведению сортов с маркерными признаками. При этом обращается внимание на новые маркерные морфологические признаки, для установления корреляции между ними и хозяйственно-биологическими показателями, изучается их генетика [18]. Так, генетический анализ мутантных линий льна выявил доминантное моногенное наследование анатомических маркерных особенностей строения стебля растений и в результате взаимодействия неаллельных генов полигенный контроль по типу эпистаза окраски семян [19].

Цель исследований – создать сорт козлятника восточного с выраженным маркерным морфологическим признаком и хозяйственно-полезными свойствами, не уступающими районированному сорту Гале, и провести молекулярно-генетический анализ по выявлению информативных ДНК-маркеров для сортовой идентификации.

Методика. Работу выполняли в ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса» в 1993–2021 гг. в отделе генофонда и лаборатории семеноводства и семеноведения кормовых культур Сравнительный ПЦР-анализ проведен в лаборатории молекулярно-генетических исследований кормовых культур. Для решения поставленной задачи на начальном этапе в 1993 г. было проведено обследование старовозрастных (10...12 г.п.) посевов сорта Гале в фазе цветения с целью поиска биотипов с маркерными признаками по окраске цветков. Из травостоя были выделены растения с белой, розовоцветковой (сиреневой) и светло-голубой окраской цветков, а также комбинированной (например, типичной сине-фиолетовой паруса и крыльев, белой – лодочки и другие вариации и оттенки). Отобрано от 2 до 21 парциальных кустов козлятника с семью различными вариантами окраски цветков. Осенью этого же года выделенные биотипы пересадили в пространственно изолированные питомники с комплектованием по признакам окраски цветка для изучения возможности их закрепления при переопылении, оценки биологических и хозяйственно-полезных показателей популяций. Семена, выращенные в питомниках переопыления, репродуцировали в трех поколениях в условиях пространственной изоляции при непрерывном негативном отборе. Основной метод в селекции козлятника с маркерным признаком – направленный индивидуальный и массовый отбор по маркерным признакам при сохранении высоких показателей кормовой и семенной продуктивности исходного сорта.

Учеты и наблюдения, оценку сформированных популяций проводили в соответствии с методическими указаниями по селекции многолетних трав (М.: ВИК, 1985). Стандартом в конкурсном сортоиспытании на кормовую и семенную продуктивность служил сорт Гале. Размер делянок составлял 10 м², повторность – 4-х кратная.

Почва опытных участков дерново-подзолистая, среднесуглинистая с содержанием в пахотном слое (0...20 см) подвижных форм фосфора (по Кирсанову) – 112...150 мг/кг, обменного калия (по Масловой) – 108...112 мг/кг, гумуса (по Тюрину) – 2,36...2,47 %, рН_{сод} – 5,3...5,6. Минеральные удобрения в виде суперфосфата простого гранулированного (18 % P₂O₅) и калия хлористого (K₂O – 60 %) из расчета P45K90 вносили на участках с питомниками осенью раз в три года. Метеорологические условия в период проведения

исследований в отдельные годы отличались между собой и от среднемноголетних показателей (прохладные или с избыточным выпадением осадков вегетационные сезоны 2000, 2017 гг., но в основном засушливые или с повышенным температурным фоном при норме или избытке осадков – 2002, 2004, 2006, 2007, 2009, 2014 гг., аномально засушливые – 2010 и 2011 гг.) что дало возможность отобрать наиболее адаптивные образцы.

Для выявления особенностей нового сорта на генетическом уровне провели ПЦР-анализ, в котором для сравнительной оценки использовали исходный сорт Гале и селекционный белоцветковый образец, полученный в результате отбора и последующих пересевов для закрепления отличительного признака.

Геномную ДНК для анализа выделяли из ткани 30 семидневных проростков от каждого экспериментального образца на основе базового SDS-метода с внесением ряда модификаций [20]. Использовали 10 пар SSRs и 6 комбинаций SRAP-праймеров в различных парных сочетаниях [21, 22]. Состав компонентов реакционной смеси для ПЦР: 10x Taq Turbo buffer – 3 мкл, 50 dNTP mix – 0,5 мкл, 5U Taq-ДНК полимеразы – 0,4 мкл, 1 мкл каждого праймера и 1 мкл геномной ДНК концентрацией 20 нг/мкл (на 1 реакцию объёмом 20 мкл). Амплификацию с осущестляли на приборе «Bio-Rad T-1000, USA» в соответствии с условиями для SSR-маркеров [21] и SRAP-маркеров [23].

Продукты реакции разделяли методом электрофореза в 1,6 %-ном LE2-агарозном геле при 50 В в течение 90 мин. Для оценки размера фрагментов продуктов амплификации использовали молекулярный маркер 100 kb DNA Ladder («ThermoFisher Scientific»). Визуализацию фрагментов амплификации проводили на приборе «Gel Doc™ XR+» (Bio-Rad, USA). Размер продуктов амплификации и показатели генетического разнообразия, рассчитанные на основании данных бинарных матриц, определяли с использованием программ Image Lab и PopGene.

Результаты и обсуждение. Исходный материал – это биологическая платформа, на которой в процессе использования различных селекционных методов работы формируется определенный генотипа с комплексом необходимых морфотипических и хозяйственных признаков. Появление биотипов с новыми признаками в старовозрастных посевах козлятника связано с тем, что в процессе интродукции в новых районах с резко отличающимися климатическими условиями в популяциях вследствие морфогенетического процесса расширился диапазон полиморфизма признаков и произошло множество новых трансформаций. Спонтанная мутация окраски цветков, обнаруженная в старовозрастных травостоях, подтверждает закономерности проявления варибельности комбинации по этому и другим признакам в гетерогенных популяциях, имеющие отношение к закону гомологических рядов [24].

Методами последовательного репродуцирования потомств в нескольких поколениях и негативного отбора удалось стабилизировать розовоцветковую и белоцветковую популяции. Было установлено, что в потомстве козлятника с розоцветковой (сиреневой) окраской цветков этот признак сохранили 98 % растений.

Образцы с белой окраской цветков отличаются не только по фенотипу, но и по хозяйственно полезным признакам. Они характеризуются слабой изменчивостью количественных признаков, которая характеризуется коэффициентом вариации в пределах от 4,3 до 8,3 %, что подтверждают данные других авторов [11, 24].

Розовоцветковая популяция отличается от сорта Гале более высокой облиственностью растений и содержанием

сухого вещества. При этом облиственность варьирует от 47...58 % до 72...80 % в зависимости от года жизни и типа побегов (монокарпические генеративные или вегетативные).

Зимостойкость растений первого года жизни при весеннем сроке посева розоцветковой популяции составила 96...98 %. На последующем этапе рекуррентной биотипической селекции на протяжении трех циклов пересева выполняли массовый негативный отбор, что способствовало закреплению биотипического состава сформированной популяции с маркерным признаком – розоцветковой (сиреневой) окраски цветков.

В 2007–2012 гг. проводили конкурсное и экологическое сортоиспытание, а также селекционное размножение в питомнике сортосохранения. В 2012 г. перспективный сорт передали на государственное сортоиспытание по экспертной оценке под названием Вест, с 2014 г. его внесли в Госреестр селекционных достижений России (оригинатор – ФНЦ «ВИК им. В.П. Вильямса»). Растения козлятника сорта Вест характеризуются ярко выраженным отличительным маркерным морфологическим признаком репродуктивных органов – фиолетово-розовой (сиреневой) окраской цветков: парус и крылья светло-розово-фиолетовые, лодочка – фиолетово-розовая, более темно окрашенная. Пыльники тычинок имеют оранжево-желтую окраску [25].

Оценка продуктивности показала, что урожайность зеленой массы галеги сорта Вест в среднем за первые 3 года пользования составила 36,5 т/га, у сорта Гале – 32,8 т/га, или на 11 % меньше. Сбор сухого вещества был равен соответственно 6,33 и 5,73 т/га. Вследствие более высокой облиственности содержание сырого протеина в фазе стеблевания – начала бутонизации (III декада мая – I декада июня) у нового сорта составляет 26...30 %; в фазе цветения (I-II декады июня) оно снижается до 18,4...19,4 %, а количество сырой клетчатки за этот период увеличивается с 22,8 до 28,7 % [25].

Фактический сбор семян сорта Вест в первый год пользования в среднем составил – 74 кг/га, во второй – 397 кг/га, третий – 427 кг/га, что соответственно на 34, 15 и 31 % выше, чем у сорта Гале. В благоприятные годы фактический сбор семян сорта Вест достигал 597...612 кг/га, биологическая урожайность – 1000 кг/га.

Следует отметить, что в семенном потомстве в посевах могут появляться единичные синецветковые растения, что требует проведения сортовой прополки. Для предотвращения переопыления обязательно соблюдение пространственной изоляции от других сортов и дикорастущих популяций козлятника.

SSR-анализ с использованием маркеров, фланкирующих микросателлитные последовательности генома, оказался малоинформативным на изучаемом материале. В общей выборке из 10 пар праймеров только три (VSpS 038, VSpS 066, VSpS 245) генерировали мономорфные фрагменты амплификации, не позволяющие оценить уровень полиморфизма ДНК (рис. 1). С остальными амплификация не прошла или была слабовыраженной. Это можно объяснить, как неудачным подбором маркеров, так и отсутствием различий в исследуемых областях генома вследствие узкой генетической основы анализируемого материала.

Результаты анализа на основе 8 комбинаций SRAP-маркеров, разработанных для амплификации интрон-экзонных участков в геноме, показали, что сорт Вест, наряду с общими фрагментами амплификации, характерными для других образцов, отличался уникальным ДНК-спектром по 6 комбинациям. В качестве примера

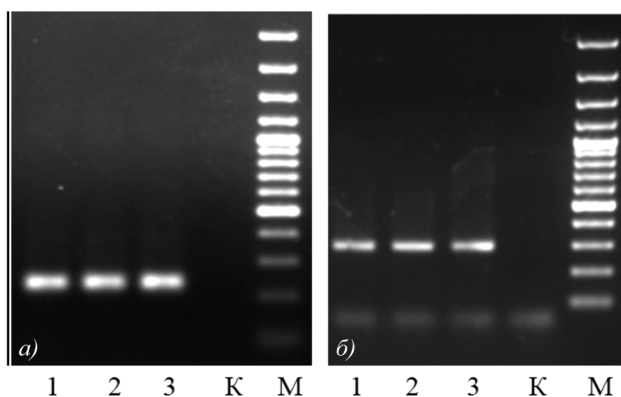


Рис. 1. Электрофореграмма ПЦР-продуктов, полученных при амплификации образцов ДНК козлятника восточного с SSR-праймерами: а) VSpsS 245; б) VSpsS 038; 1 – белоцветковое растение; 2 – сорт Вест; 3 – сорт Гале; К – отрицательный контроль (H₂O); М – маркер молекулярной массы (100 bp DNA Ladder).

приведены электрофореграммы с некоторыми из информативных праймеров. В частности, сорт Вест выделялся наличием ампликонов размером 229 и 726 пар нуклеотидов (п.н.) и отсутствием фрагментов ДНК размером 1108 п.н. и 781 п.н., имеющих в спектре сорта Гале и белоцветковой формы, с комбинациями праймеров ME3-EM4, ME3-EM2 и ME3-EM5 соответственно (рис. 2).

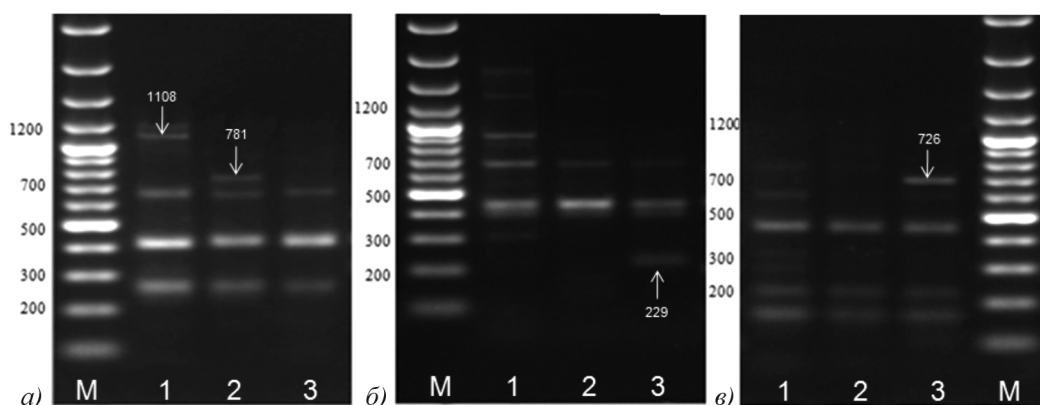


Рис. 2. Электрофореграмма ПЦР-продуктов, полученных при амплификации образцов ДНК козлятника восточного с использованием SRAP-праймеров: а) ME3-EM5; б) ME3-EM4; в) ME3-EM2; 1 – сорт Гале; 2 – Гале б/ц (белоцветковое растение на основе сорта Галле); 3 – сорт Вест; М – маркер молекулярной массы (100 bp DNA Ladder).

По результатам, полученным с использованием SRAP-маркеров ME1-EM5 и ME1-EM1, обнаружено высокое сходство на генетическом уровне между сортом Вест и белоцветковой формой, что подтверждало и высокое значение индекса разнообразия по Нею (H_e) – 0,833 (см. табл.). Указанные образцы оказались рас-

Индексы генетического разнообразия по Нею для анализируемых образцов козлятника восточного*

| Образец | Гале, синецветковый | Гале, белоцветковый | Вест, розовоцветковый |
|----------|---------------------|---------------------|-----------------------|
| Гале | | 0,722 | 0,677 |
| Гале б/ц | 0,325 | | 0,833 |
| Вест | 0,406 | 0,182 | |

*над диагональю приведены индексы генетического сходства, под диагональю – генетические дистанции; Гале б/ц – белоцветковое растение, полученное из сорта Галле.

положенными на общей ветви генеалогического дерева и на дендрограмме, построенной методом UPGMA (невзвешенной попарной группировки с усреднением), анализируемые образцы (рис. 3).

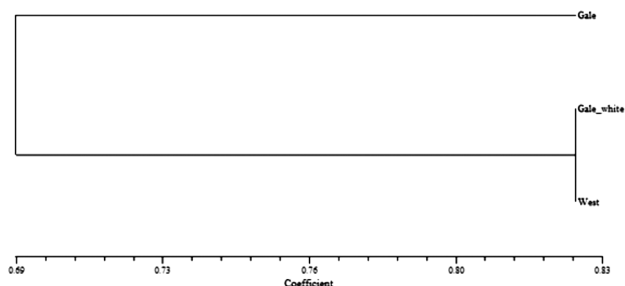


Рис. 3. UPGMA-дендрограмма генетического сходства между образцами козлятника восточного (Gale – сорт Гале; Gale white – белоцветковая форма; West – сорт Вест).

Таким образом, интродуцированные популяции козлятника восточного в результате морфогенетического процесса подвержены генетической изменчивости. Новые нетипичные признаки окраски цветков могут использоваться в селекции для создания сортов с маркерными признаками. На основании отбора отдельных биотипов из популяции сорта Гале были выделены растения с различной окраской цветков. Методом последовательного репродуцирования потомств в нескольких

поколениях и негативного отбора, удалось стабилизировать розовоцветковую и белоцветковую популяции. В потомстве козлятника с розовой окраской цветков такой признак сохранили 98 % растений. Эта популяция после конкурсного испытания была зарегистрирована в Госреестре селекционных достижений как сорт козлятника Вест с маркерным морфотипическим признаком – розовой окраской цветков. Новый сорт характеризуется высокой продуктивностью. По сбору кормовой массы и урожайности семян он превосходит сорт Гале на 15...34 %. Наличие маркерного фенотипического признака позволяет легко визуально идентифицировать сорт Вест при ведении его семеноводства.

По результатам молекулярно-генетического анализа определены информативные комбинации SRAP-маркеров ME3-EM4 и ME3-EM2, которые можно использовать в качестве дополнительного инструмента при сортовой ДНК-идентификации и создании генетического паспорта нового сорта.

Литература.

1. Productivity of Galega (*Galega orientalis*) in single-species and binary crops with Sainfoin (*Onobrychis arenaria*): a case study of forest-steppe of European Russia / V.I. Cherniavskii, E.V. Dumacheva, F.N. Lisetskii, et al. // *Bioscience biotechnology research communications*. 2020. No. 13. (1) P. 15-22. doi: 10.1088/1742-6596/1942/1/012103.
2. Технологические приемы формирования продуктивности козлятника восточного / В.И. Турусов, А.М. Новичихин, Л.А. Пискарева и др. // *Достижения науки и техники АПК*. 2016. Т. 30. № 3. С. 68-70.
3. Сафина Н.В., Кильянова Т.В. Влияние покровной культуры, способов посева и доз вносимых удобрений на продуктивность козлятника восточного в условиях Среднего Поволжья // *Достижения науки и техники АПК*. 2015. Т. 29. № 10. С. 80-82.
4. Иванова М. В., Плотников А. А. Сравнительная эффективность бобово-злаковых травостоев на основе козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.) // *Достижения науки и техники АПК*. 2019. Т. 33. № 1. С. 10–13. doi: 10.24411/0235-2451-2019-10103.
5. Анализ симбиотической эффективности бактериальных и грибных препаратов на кормовых культурах по данным урожайности семян / А.П. Юрков, Ю.В. Лактионов, А.П. Кожемяков и др. // *Кормопроизводство*. 2017. № 3. С. 16–21.
6. Дронова Т.Н., Бурицева Н.И., Кулик Д.К. Симбиотическая деятельность и продуктивность многолетних бобовых трав при использовании микробиологических препаратов // *Плодородие*. 2018. № 5 (104). С. 61–63.
7. Черняских В.И., Думачева Е.В. Эффективность совместных посевов козлятника восточного с эспарцетом песчаным на семена // *Кормопроизводство*. 2019. № 12. С. 21–25. doi: 10.25685/KRM.2019.2019.49854.
8. Rytuzja K., Bombik A. Application of a logistic function to describe the growth of Fodder Galega // *Journal of Ecological Engineering*. 2017. No. 18 (1). P. 125–131. doi: 10.12911/22998993/66245.
9. Fodder galega (*Galega orientalis* Lam) grass potential as a forage and bioenergy crop / H. Meripõld, Ü. Tamm, S. Tamm, et al. // *Agronomy Research*. 2017. No. 15(4). P. 1693-1699.
10. Золотарев В.Н. Перспективы и проблемные аспекты использования козлятника восточного в кормопроизводстве России: состояние и направления селекции // *Кормопроизводство*. 2021. № 5. С. 35-46. doi: 10.25685/KRM.2021.40.11.001.
11. Сорты и перспективные образцы козлятника восточного селекции Псковского института сельского хозяйства / Т.В. Шайкова, В.С. Баева, Н.С. Рогозина, et al. // *Владимирский земледелец*. 2019. № 4 (90). С. 72-76. doi: 10.24411/2225-2584-2019-10099.
12. Авраменко М.Н., Бушуева В.И. Оценка исходного материала галеги восточной в коллекционном питомнике // *Вестник Белорусской государственной сельскохозяйственной академии*. 2012. № 1. С. 64-69.
13. Baležentienė L. Bio-morphological peculiarities of new cultivars of fodder galega (*Galega orientalis* Lam.) // *Latvian Journal of Agronomy / Agronomija Vestis*. 2008. No. 10. P. 82-87.
14. Малько А.М. Мировой рынок семян и место России в нем // *Картофель и овощи*. – 2013. № 4. С. 2-4.
15. Bostyn S. J. R. Towards a Fair Scope of Protection for Plant Breeders' Rights in an Era of New Breeding Techniques: Proposals for a Modernization of the Essentially Derived Variety Concept // *Agronomy*. 2021. No. 11 (8). P. 1511. URL: <https://www.mdpi.com/2073-4395/11/8/1511> (дата обращения: 12.02.2022). doi: 10.3390/agronomy11081511.
16. Morphological Characteristics of Grapevine Cultivars and Closed Contour Analysis with Elliptic Fourier Descriptors / M. Kupe, B. Sayinci, B. Demir et al. // *Plants*. 2021. No. 10 (7). P. 1350. URL: <https://www.mdpi.com/2223-7747/10/7/1350> (дата обращения: 15.02.2022). doi: 10.3390/plants10071350.
17. Assessment of the Genetic Diversity of *Chrysanthemum* Cultivars Using SSR Markers / A. Olejnik, K. Parkitna, B. Kozak, et al. // *Agronomy*. 2021. No. 11 (11). P. 2318. URL: <https://www.mdpi.com/2073-4395/11/11/2318> (дата обращения: 14.02.2022). doi: 10.3390/agronomy11112318.
18. Маркерные признаки сортов льна и их значение в селекции и семеноводстве / С.Ф. Тихвинский, С.В. Доронин, А.Н. Дудина и др. // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2008. № 11. С. 42-44.
19. Журавель В.Н., Будилка Г.И., Вендель Г.В. Использование рецессивного маркерного признака бледно-желтая окраска лепестков цветков в селекции горчицы сизой (*Brassica juncea* Czern.) // *Научно-технический бюллетень Института масличных культур НААН*. 2018. № 26 (26). С. 14-20.
20. Эффективный способ выделения ДНК для ПЦР-анализа из «балк-образцов» проростков / И.А. Клименко, А.А. Антонов, В.А. Душкин и др. // *Адаптивное кормопроизводство*. 2021. № 3. С. 29-48. doi: 10.33814/AFP-2222-5366-2021-3-29-48.
21. Development of 65 novel polymorphic cDNA-SSR markers in common vetch (*Vicia sativa* subsp. *sativa*) using next generation sequencing / J.W. Chung, T.S. Kim, S. Suresh, et al. // *Molecules*. 2013. No. 18(7). P. 8376-8392.
22. Li G., Quiros C. F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in Brassica // *Theoretical and applied genetics*. 2001. No. 103 (2). P. 455-461.
23. Assessment of genetic diversity in *Galega officinalis* L. using ISSR and SRAP markers / Z. Wang, J.E. Wang, X.M. Wang, et al. // *Genetic resources and crop evolution*. 2012. No. 59(5). P. 865-873.
24. Bushuyeva V.I. The use of the regularities of manifestation of hereditary variability characteristics in legumes in the selection of galega orientalis (Book Chapter) // *Ecological consequences of increasing crop productivity: Plant breeding and biotic diversity*. New York: Apple Academic Press, Inc., 2014. P. 277-286.
25. Золотарев В.Н., Коровина В.Л. Сорт козлятника восточного (*Galega orientalis* Lam.) с маркерным признаком // *Адаптивное кормопроизводство*. 2021. № 1. С. 6-14. doi: 10.33814/AFP-2222-5366-2021-1-6-14.

Поступила в редакцию 04.03.2022
 После доработки 30.03.2022
 Принята к публикации 25.04.2022