ISSN 2412–608X. МАСЛИЧНЫЕ КУЛЬТУРЫ. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. Вып. 1 (173), 2018

Селекция и семеноводство сельскохозяйственных культур

УДК 633.854.78:575

DOI 10.25230/2412–608X–2018–1–173–3–9

СКРИНИНГ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ С ПОМОЩЬЮ ДНК-МАРКЕРОВ ГЕНОТИПОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ГИБРИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ ПО ГЕНУ *AHAS1*

А.Е. Солоденко,
кандидат биологических наук
В.И. Файт,
доктор биологических наук

Селекционно-генетический институт –
Национальный центр семеноведения
и сортоизучения Национальной академии
аграрных наук Украины
Украина, 65036, г. Одесса, Овидиопольская дорога, 3
E-mail: angelika_solo@yahoo.com

Для цитирования: *Солоденко А.Е., Файт В.И.* Скрининг и идентификация с помощью ДНК-маркеров генотипов подсолнечника гибридного происхождения по гену *AHAS1* // Масличные культуры. Научно-технический бюллетень Всероссийского научно-исследовательского института масличных культур. – 2018. – Вып. 1 (173). – С. 3–9.

Ключевые слова: подсолнечник, гербициды, устойчивость, ДНК-маркеры, ген *AHAS1*.

Проведено молекулярно-генетическое исследование гибридов F_1 и F_2 подсолнечника по микросателлитному локусу, локализованному в пределах последовательности мутантного гена *AHAS1,* ассоциированного с устойчивостью к гербицидам, которые ингибируют ацетолактатсинтазу. Целью работы был скрининг гибридных популяций F_1 и F_2 подсолнечника с помощью ДНК-маркеров и идентификация гомозиготных сегрегантов – носителей гена устойчивости к SU гербицидам. Показана возможность идентификации гибридных растений с разными аллелями гена *AHAS1* и эффективность аллеля 191 п.н. в гомо- и гетерозиготном состоянии для маркерного отбора генотипов, устойчивых к гербициду группы сульфонилмочевины. Растения F_2 – носители указанного гена в гомозиготном состоянии – могут быть использованы в качестве исходного материала в селекции с целью создания новых инбредных линий с генетически обусловленной устойчивостью к SU-гербицидам.

UDC 633.854.78:575

Usage of DNA markers for screening and identification of sunflower genotypes of hybrid origin on *AHAS1* gene.

Solodenko A.Ye., PhD in biology
Fayt V.I., doctor of biology

Plant Breeding and Genetics Institute –
National Center of Seed and Cultivar Investigation of
National Academy of Agricultural Science of Ukraine
Ukraine, Odessa, Ovidiopolskaya road, 3
E-mail: angelika_solo@yahoo.com

Key words: sunflower, herbicides, resistance, DNA markers, *AHAS1* gene.

A molecular genetic study of sunflower F_1 and F_2 hybrids on a microsatellite locus located within the mutant *AHAS1* gene associated with herbicide resistance was performed. The aim of the work was to screen F_1 and F_2 sunflower hybrid populations with usage of DNA markers and identification of homozygous segregants containing the gene for resistance to SU herbicides. The possibility of identification of hybrid plants with different alleles of the *AHAS1* gene was shown. The efficiency of the allele of 191 b.p. in the homo- and heterozygous state for marker selection of genotypes resistant to the herbicide of the sulfonylurea group was confirmed. F_2 plants that are carriers of this gene in the homozygous state can be used as an initial germplasm in breeding for the purpose of creating new inbred lines with genetically determined resistance to SU herbicides.

Введение. Подсолнечник – одна из высокорентабельных сельскохозяйственных культур в Украине. Площади посева данной культуры за последнее десятилетие увеличились почти в два раза и достигают в последние годы 5,5 млн га и более. На сегодняшний день реализация биологического потенциала подсолнечника в Украине не достигает даже 50 %. Основными причинами этого являются несоблюдение севооборотов и технологии выращивания культуры, что способствует распространению сорняков [1]. Известно, что подсолнечник, особенно на начальных фазах роста, обладает слабой конкурентной способностью относительно сорных растений. Реализация потенциальной продуктивности гибридов подсолнечника возможна только на фоне генетически обусловленной устойчивости к высокоэффективным гербицидам [2].

В современных агротехнологиях защиты посевов подсолнечника от сорняков (Clearfield и ExpressSun) применяют систему «гибрид-гербицид», где в качестве первого элемента выступает использование гербицидов группы сульфонилмочевины или имидазолинонов, а второй элемент – выращивание гибридов подсолнечника с генетически обусловленной устойчивостью к указанным препаратам. Гербициды имидазолиноновой и сульфонилмочевинной группы ингибируют фермент синтеза аминокислотных цепей синтазу ацетогидроксикислоты (acetohydroxyacid synthase, AHAS), которая известна также как ацетолактатсинтаза (acetolactatesynthase, ALS). Данный фермент катализирует первый этап биосинтеза аминокислот с разветвленной цепью. Действие AHAS-ингибирующих гербицидов приводит к фатальному нарушению метаболизма у чувствительных к этим гербицидам растений [3]. Устойчивость к гербицидам, ингибирующим ацетолактатсинтазу, – результат точечных мутаций генов, которые кодируют синтез указанного фермента. У более 80 видов растений идентифицированы природные биотипы, устойчивые к AHAS-ингибирующим гербицидам [4]. Популяции дикорастущего подсолнечника с устойчивостью к имидазолиноновым (IMI) и сульфонилмочевинным (SU) гербицидам впервые были обнаружены в Канзасе и Южной Дакоте (США) на полях, где при выращивании сои применяли гербицидные обработки на протяжении 7–8 лет [5; 6]. От дикорастущих популяций (ANN-PUR и ANN-KAN) мутантные гены, контролирующие устойчивость к AHAS-ингибирующим гербицидам, путем традиционной селекции без использования генетической инженерии были интрогрессированы в элитные инбредные линии культурного подсолнечника с целью создания устойчивых сортов и гибридов [7; 8].

У подсолнечника идентифицировано три *AHAS* гена (*AHAS1, AHAS2, AHAS3),* определена их локализация соответственно на 9, 6, 2 группах сцепления генетической карты и исследована молекулярная структура указанных генов [9]. В пределах *AHAS* генов подсолнечника, так же как и у других видов растений, не выявлено интронов, при этом нуклеотидные последовательности отличаются высокой степенью идентичности. Так, ген *AHAS2* отличается от гена *AHAS1* делецией 9 п.н. В свою очередь ген *AHAS3* отличается от генов *AHAS1* и *AHAS2* наличием двух делеций 3 и 9 п.н. В результате секвенирования и сопоставления генов *AHAS* дикого типа и мутантных вариантов *AHAS* выявлен ряд различий. В последовательности ДНК гена *AHAS1* идентифицировали 48 однонуклеотидных замен (single nucleotide polymorphisms, SNPs) и вариацию в количестве [ACC]n повторов. В структуре гена *AHAS2* детектирована одна инсерция-делеция (INDEL) длиной 6 п.н. Мутантный ген *AHAS3* отличается от гена дикого типа одним SNP [10]. Устойчивость к IMI-гербицидам обусловлена заменой C-T в кодоне 205 гена *AHAS1*, трансзиция C-T в кодоне 197 приводит к появлению устойчивости к SU гербицидам. В результате вышеуказанных точковых мутаций меняется одна аминокислота в последовательности фермента и его конформация, что делает фермент недоступным для действия гербицидов.

ДНК-маркеры, тесно сцепленные с генами, которые контролируют адаптивно значимые или хозяйственно полезные признаки, позволяют вести маркерную селекцию (marker assisted selection, MAS), что значительно облегчает контроль над переносом генов при скрещиваниях и идентификацию гибридов. С помощью ДНК-маркеров возможно проводить скрининг генетических ресурсов, тестирование исходного селекционного материала и поиск доноров целевых генов, что также способствует повышению эффективности отбора. Ранее при исследовании полиморфизма микросателлитной последовательности гена *AHAS1* нами марки-

рованы линии-источники устойчивости к IMI и SU-гербицидам, которые получены из National Germplasm Resources Laboratory (North Central Regional PI Station, North Dakota, USA) [11]. Цель данной работы – скрининг гибридных популяций F_1 и F_2 подсолнечника с помощью молекулярных маркеров мутантного гена *AHAS1* и идентификация гомозиготных сегрегантов-носителей гена устойчивости к SU-гербицидам.

Материалы и методы. В качестве исходного материала для исследования использовали устойчивые к SU-гербицидам линии SURES-1 и SURES-2; инбредные линии селекции Селекционно-генетического института (СГИ-НЦСС): ОС1019В, ОС1029В, Од973В, Од5545В, Од3171В; индивидуальные растения F_1 и сегреганты популяций F_2, полученные в результате попарной изоляции «корзинка на корзинку» и опыления растений без кастрации цветков от скрещиваний SURES-2 × ОС1029В, SURES-2 × ОС1019В, Од5545В × SURES-1, Од3171В × SURES-1.

Семена, растительный материал для исследования и результаты фенотипической оценки устойчивости к действию гербицида Гранстар индивидуальных растений F_2 популяций Од5545В × SURES-1, Од3171В × SURES-1 любезно предоставлены кандидатами с.-х. наук Б.Ф. Вареником и С.И. Карапирой (отдел селекции и семеноводства гибридного подсолнечника СГИ-НЦСС).

ДНК выделяли цетавлоновым методом из сухих листьев индивидуальных растений или этиолированных проростков. Амплификацию осуществляли на приборе «Терцик» (ДНК-технология, Россия). Состав реакционной смеси: буфер для DreamTaq полимеразы, 1 единица активности DreamTaq полимеразы (Fermentas, Литва), 0,2 мкМ каждого праймера, 0,2 мМ каждого dNTP, 20 нг ДНК. Условия амплификации: начальная денатурация 2 мин при 94 °С; 30 циклов – 20 с при 60 °С, 30 с при 72 °С, 20 с при 92 °С; финальная элонгация 5 мин. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили в полиакриламидном геле (10 % акриламид, 1 х трис-боратный буфер) с последующей визуализацией азотнокислым серебром. Документировали полученные электрофореграммы с помощью цифрового фотоаппарата. Размер фрагментов ДНК определяли с использованием программы «GelAnalyzer 2010» относительно маркера длины фрагментов ДНК pUC 19/MspI. Информация о нуклеотидных последовательностях праймеров для исследования гена *AHAS1,* согласно Kolkman et al. [10].

Результаты и обсуждение. Амплификация фрагмента гена *AHAS1*, который содержит микросателлитный повтор, позволила выявить ряд полиморфных аллелей и дифференцировать исследованные линии, которые отличаются по устойчивости к гербицидам группы сульфонилмочевины. С использованием пары праймеров pAHAS 16–17 у линий SURES-1 и SURES-2 выявили аллель 191 п.н. Линии SURES-1 и SURES-2 имеют общее происхождение, донорами устойчивости для этих линий послужили отдельные растения популяции ANN-KAN дикорастущего подсолнечника *Helianthus annuus* L. Вместе с тем указанные линии отличаются по педигри. Так, в родословной линии SURES-1, кроме образца ANN-KAN *H. annuus,* присутствуют линии НА 424, НА 406, НА 89. При создании линии SURES-2 использовали линии RHA 377, RHA 392 и RHA 376. Согласно данным Kolkman et al. (2004), устойчивость к сульфонилмочевинным гербицидам у линий SURES-1 и SURES-2 связана с точковой мутацией в кодоне 197 гена *AHAS1,* в результате которой происходит замена пролина на лейцин в молекуле ацетолактатсинтазы. У линий селекции СГИ-НЦСС ОС 1019 В, ОС 1029 В, Од 973 В, Од 5545 В, Од 3171 В в результате амплификации ДНК с парой праймеров pAHAS 16–17 выявили альтернативный аллель 176 п.н.

Таким образом, аллели локуса *AHAS1* 176 и 191 п.н. могут быть рекомендованы как потенциальные маркеры при идентификации гибридных растений F_1 и при отборе из расщепляющихся популяций F_2.

При анализе семян «потенциальных» F_1, полученных от скрещивания по индивидуальной схеме «корзинка на корзинку» линии SURES-2 с линией ОС 1019 В или ОС 1029 В и линии SURES-1 с линией Од 973 В без использования кастрации цветков, получили несколько различные результаты. Так как растения всех задействованных в скрещиваниях линий были фертильными, в каждой корзинке, как материнской, так и отцовской линии, теоретически возможным было формирование семян как гибридной природы, так и от самоопыления. Так, в корзинках всех растений первого и второго родителя комбинации скрещивания SURES-1 × Од973В выявили только семена с присутствием аллелей 191 или 176 п.н. соответственно, т.е. гомозиготные генотипы, полученные от самоопыления. В комбинации скрещивания SURES-2 × ОС1019В часть семян из корзинок растений линии SURES-2 оказались гетерозиготами по исследованному локусу, т.е. в их генотипе присутствовали аллели 191 и 176 п.н. от обоих родителей (рис. 1: дорожки 2–6, 13, 14). Другая часть семян из корзинок SURES-2 по генотипу соответствовала родительской линии, т.е. такие семена завязались в результате самоопыления (рис. 1: дорожки 11, 12). В то же время среди проанализированных семян из корзинок растений линии ОС 1019 В не выявлено ни одного гибрида. Все они, без исключения, получены от самоопыления, о чем свидетельствовало присутствие в генотипе каждого из них только аллеля 176 п.н. линии ОС 1019В (рис. 1: дорожки 7–9).

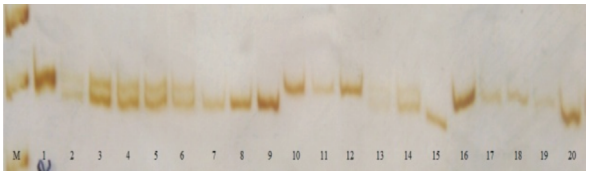


Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК линий и гибридов по маркерному микросателлитному локусу *pAHAS 16–17*.
Дорожки: 1, 10, 16 – SURES-2;
15 – ОС 1019 В; 20 – ОС 1029 В;
2–6, 11–14, 17–19 – семена F_1 из корзинок растений линий SURES-2; 7–9 – ОС 1019 В;
м – маркер длины фрагментов ДНК pUC 19/MspI (фрагменты 147, 190, 242 п.н.)

Семена с гетерозиготным генотипом по локусу *pAHAS 16–17* выявлены и в корзинках растений SURES-2, которые были задействованы в скрещиваниях с линией ОС 1029В. У семян из корзинок линии ОС 1029В идентифицирован гомозиготный генотип с аллелем 176 п.н., который соответствует таковому родительского растения линии ОС 1029В.

На следующем этапе идентифицировали ПЦР-анализом по микросателлитному маркерному локусу *pAHAS 16–17* растения F_1, выращенные в поле из семян, собранных под изоляторами с корзинок растений линии SURES-2. Растения F_1, в генотипе которых выявлены аллели обоих родительских генотипов, т.е. 176 и 191 п.н., использовали в дальнейшей работе для самоопыления под изолятором и получения семян F_2.

Индивидуальные растения F_2 популяций SURES-2 × ОС1019В и SURES-2 × ОС1029В (24 и 57 шт. соответственно), исследованные по маркерному локусу *pAHAS 16–17* и по присутствию или отсутствию аллелей 176 и 191 п.н., могут быть разделены на три генотипических класса (таблица).

Таблица

Расщепление по аллелям микросателлитного локуса pAHAS 16–17 индивидуальных растений F_2 популяций SURES-2 × ОС 1019В и SURES-2 × ОС 1029В

Аллели (п.н.)	SURES-2 x ОС1019В		SURES-2 x ОС1029В	
	Теоретически ожидаемое	Фактически получено	Теоретически ожидаемое	Фактически получено
176	6	7	14,25	11
176-191	12	7	28,50	28
191	6	10	14,25	18
$\chi^2_{1:2:1}$		4,92		1,74

Первый класс составили гомозиготные растения, в генотипе которых присутствует аллель 191 п.н. линии-донора мутантного гена *AHAS1* SURES-2. Ко второму классу отнесены растения с аллелем 176 п.н., характерным для линий ОС 1019 В и ОС 1029 В. Третий класс – гетерозиготные растения, в генотипе которых присутствуют аллели обоих родителей. Микросателлитные маркеры характеризуются кодоминантным типом наследования и, как правило, проявляют менделевский характер расщепления [12]. Теоретически в F_2 должно наблюдаться расщепление в соотношении: одно растение с аллелем одного родителя, два – с аллелями обоих родителей и одно – с аллелем второго родителя. В каждой из комбинаций скрещивания SURES-2 × ОС 1019 В и SURES-2 × ОС 1029 В фактически полученное расщепление F_2 популяций по аллелям локуса *pAHAS 16–17* соответствовало теоретически ожидаемому соотношению. Критерий соответствия $\chi^2_{1:2:1}$ в первом скрещивании равен 4,92, а во втором – 1,74, что значительно меньше $\chi^2_{0,05} = 5,99$ для df = 2. В целом получено 10 гомозиготных растений F_2 популяции SURES-2 × ОС 1019 В и 18 гомозиготных растений F_2 популяции SURES-2 × ОС 1029 В, которые по генотипу соответствуют линии-донору мутантного гена *AHAS1*.

Для оценки эффективности использования аллелей 191 и 176 п.н. локусу *pAHAS 16–17* в качестве маркера гербицидоустойчивости в практической селекции сопоставили результаты идентификации по аллелям гена *AHAS1* и устойчивости к гербициду Гранстар (действующее вещество – трибенуронметил) индивидуальных растений F_2 комбинаций скрещивания Од 3171 В × SURES-1 и Од 5545 В × SURES-1. Для всех растений, неустойчивых к действию гербицида с угнетённым ростом и нетипичной морфологией, определен гомозиготный генотип по маркерному локусу *pAHAS 16–17* с аллелем, который соответствует родительским линиям Од 3171 В и Од 5545 В (рис. 2А: дорожки 3, 4; рис. 2Б: дорожки 3, 6, 8, 10).

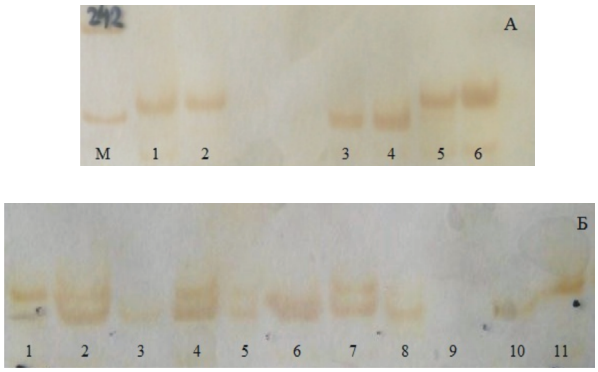


Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК растений F_2 комбинаций скрещивания Од 3171 В × SURES-1 (А) и Од 5545 В × SURES-1 (Б) по маркерному локусу *pAHAS 16–17*. М – маркер длины фрагментов ДНК pUC 19/MspI (фрагменты 190, 242 п.н.)

Растения F_2, в генотипе которых присутствуют маркерные аллели обеих родительских линий, показали устойчивость к действию гербицида. То есть одной копии мутантного гена *pAHAS1* достаточно для нормального развития растений подсолнечника на фоне гербицидной обработки. Маркерным анализом среди растений F_2 определены те, которые показывают устойчивость к гербициду и содержат две копии мутантного гена (рис. 3: дорожка 8).

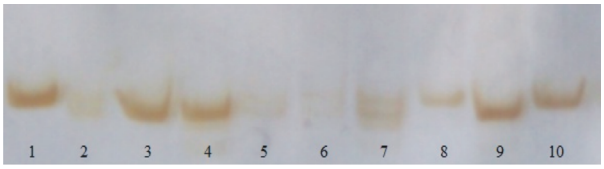


Рисунок 3 – Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК линий SURES-1, Од 5545 В и растений F_2 Од 5545 В × SURES-1 по маркерному локусу *pAHAS 16–17*. Дорожки: 1, 10 – SURES-1; 2–8, 10 – растения F_2; 9 – Од 5545 В; м – маркер длины фрагментов ДНК pUC 19/MspI (фрагмент 190 п.н.)

Семена указанных гомозиготных по аллелю 191 п.н. локуса *pAHAS 16-17*, устойчивых к гербициду Гранстар растений F_2 комбинаций скрещивания Од5545В × SURES-1, Од3171В × SURES-1, а также идентифицированные только по маркеру гена *AHAS1* гомозиготные растения F_2 популяций SURES-2 × ОС1019В и SURES-2 × ОС1029В представляют наибольший интерес для селекции. В последующих поколениях самоопыления у потомков гомозиготных, отобранных по маркеру 191 п.н. растений F_2 возможно расщепление по признакам адаптивности, продуктивности и другим, кроме устойчивости к SU-гербицидам, что позволяет отобрать необходимые сегреганты. Такие рекомбинантные генотипы могут составить основу исходного материала для развертывания селекционной работы по созданию новых самоопыленных или аналогов лучших линий селекции СГИ-НЦСС, адаптированных к условиям юга Украины с генетически детерминированной устойчивостью к гербицидам группы сульфонилмочевины и комплексом хозяйственно ценных признаков.

Выводы. Использование микросателлитного маркера позволило идентифицировать по аллелям гена *pAHAS1* генотипы линий разнообразного происхождения, гетерозиготные в F_1 и гомозиготные в F_2 растения. Расщепление F_2 популяций по аллелям гена *pAHAS1* соответствовало законам Менделя при отличиях родителей по одному гену. Присутствие в генотипе растения F_2 аллеля 191 п.н. локуса *pAHAS1* в гомо- или гетерозиготном состоянии обусловливает устойчивость к действию гербицида группы сульфонилмочевины и может служить основой для проведения маркерного отбора по данному признаку. Растения F_2 – носители указанного гена в гомозиготном состоянии могут быть использованы как исходный материал в селекции с целью создания новых или аналогов современных инбредных линий с генетически обусловленной устойчивостью к SU-гербицидам.

Список литературы

1. *Кириченко В.В., Святченко С.І., Цехмейструк М.Г.* Пріоритетні напрями виробництва соняшнику // Агрономка соняшника. Науково-практичний збірник. – 2014. – Т. 2. – С. 84–88.

2. *Бурлов В.В.* Конкурентоспроможність гібридів соняшнику вітчизняної селекції // Агрономка соняшника. Науково-практичний збірник. – 2014. – Т. 2. – С. 112–114.

3. *Duggleby R.*G., *Pang S.S.* Acetohydroxyacid synthase // J. Biochem. Mol. Biol. – 2000. – V. 33. – P. 1–36.

4. *Heap I.* The International survey of herbicide resistance weeds: [Электронный ресурс]. Режим доступа: http:www.weedscience.org (дата обращения: 2.02.2007).

5. *Al-Khatib K., Baumgartner J.R., Peterson D.E., Currie R.S.* Imazethapyr resistance in common sunflower (Helianthus annuus L.) // Weed Science. – 1998. – V. 46. – P. 403–407.

6. *White A.D., Owen M.D., Hartzler R.G., Cardina J.* Common sunflower resistance to acetolactate-inhibiting herbicides // Weed Science. – 2002. – V. 50. – P. 432–437.

7. *Al-Khatib K., Miller J.F*. Registration of four genetic stocks of sunflower resistant to imidazolinone herbicides // Crop Science. – 2000. – V. 40. – P. 869–870.

8. *Miller J.F., Al-Khatib K.* Registration of two oilseed sunflower genetic stocks, SURES-1 and SURES-2, resistant to tribenuron herbicide // Crop Science. – 2004. – V. 44. – P.1037–1038.

9. *Sala C., Bulos M., Echarte M.* Genetic analysis of an induced mutation conferring imidasolinone resistance in sunflower // Theor. Appl. Genet. – 2008. – V. 118. – P. 105–112.

10. *Kolkman J., Slabaugh M., Bruniard J., Berry S., Bushman B., Olungu C., Maes N., Abratti G., Zambelli A., Miller J., Leon A., Knapp S.* Acetohydroxyacid synthase mutations conferring resistance to imidasolinone or sulfonylurea herbicides in sunflower // Theor. Appl. Genet. – 2004. – V. 109. – P. 1147–1159.

11. *Солоденко А.Є., Файт В.І.* Маркери гена *AHAS1* для використання в селекції соняшника на стійкість до гербіцидів // Вісник Харківського національного аграрного університету. Серія Біологія. – Вип. 3 (36). – 2015. – С. 71–75.

12. *LarocheA., DemekeT., Gaudet D.A*. [et al.]. Development of PCR marker for rapid identification of the *Bt-10* gene for common bunt resistance in wheat // Genome. – 2000. – 43. – P. 217–223.

References

1. Kirichenko V.V., Svyatchenko S.I., Tsekhmeystruk M.G. Prioritetni napryami virobnitstva sonyashniku // Agronomka sonyashnika. Naukovo-praktichniy zbirnik. – 2014. – T. 2. – S. 84–88.

2. Burlov V.V. Konkurentospromozhnist' gibridiv sonyashniku vitchiznyanoї selektsiї // Agronomka sonyashnika. Naukovo-praktichniy zbirnik. – 2014. – T. 2. – S. 112–114.

3. Duggleby R.G., Pang S.S. Acetohydroxyacid synthase // J. Biochem. Mol. Biol. – 2000. – V. 33. – P. 1–36.

4. Heap I. The International survey of herbicide resistance weeds: [Elektronnyy resurs]. – Rezhim dostupa: http:www.weedscience.org (data obrashcheniya: 2.02.2007).

5. Al-Khatib K., Baumgartner J.R., Peterson D.E., Currie R.S. Imazethapyr resistance in common sunflower (Helianthus annuus L.) // Weed Science. – 1998. – V. 46. – P. 403–407.

6. White A.D., Owen M.D., Hartzler R.G., Cardina J. Common sunflower resistance to acetolactate-inhibiting herbicides // Weed Science. – 2002. – V. 50. – P. 432–437.

7. Al-Khatib K., Miller J.F. Registration of four genetic stocks of sunflower resistant to imidazolinone herbicides // Crop Science. – 2000. – V. 40. – P. 869–870.

8. Miller J.F., Al-Khatib K. Registration of two oilseed sunflower genetic stocks, SURES-1 and SURES-2, resistant to tribenuron herbicide // Crop Science. – 2004. – V. 44. – P.1037–1038.

9. Sala C., Bulos M., Echarte M. Genetic analysis of an induced mutation conferring imidasolinone resistance in sunflower // Theor. Appl. Genet. – 2008. – V. 118. – P. 105–112.

10. Kolkman J., Slabaugh M., Bruniard J., Berry S., Bushman B., Olungu C., Maes N., Abratti G., Zambelli A., Miller J., Leon A., Knapp S. Acetohydroxyacid synthase mutations conferring resistance to imidasolinone or sulfonylurea herbicides in sunflower // Theor. Appl. Genet. – 2004. – V. 109. – P. 1147–1159.

11. Solodenko A.Є., Fayt V.I. Markeri gena AHAS1 dlya vikoristannya v selektsiї sonyashnika na stiykist' do gerbitsidiv // Visnik Kharkivs'kogo natsional'nogo agrarnogo universitetu. Seriya Biologiya. – Vip. 3 (36). – 2015. – S. 71–75.

12. LarocheA., DemekeT., Gaudet D.A. [et al.]. Development of PCR marker for rapid identification of the Bt-10 gene for common bunt resistance in wheat // Genome. – 2000. – 43. – P. 217–223.