

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ СЕЛЕКЦИИ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР»

На правах рукописи

Должикова
Мария Александровна

Оценка генетического разнообразия, генетическое картирование с помощью
SNP и SSR маркеров красной смородины (*Ribes rubrum* L.)

Специальность: 1.5.7. – Генетика

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук
Пикунова Анна Викторовна

Санкт-Петербург

2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Красная смородина как сельскохозяйственная культура	12
1.2. ДНК-маркеры как инструмент изучения генома.....	16
1.3. Методы ДНК-идентификации, система генетической паспортизации для востребованных в производстве сортов	27
1.4. Генетические карты групп сцепления, локализация хозяйственно- полезных признаков в геноме.....	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	42
2.1. Объекты исследований.....	42
2.2. Методы исследований	44
2.2.1. Отбор растительного материала.....	44
2.2.3. Выделение ДНК.....	45
2.2.4. SSR маркеры.....	46
2.2.5. ПЦР-анализ и разделение ПЦР-продуктов, электрофорез.....	53
2.2.6. GBS-анализ.....	55
2.2.7. Статистическая обработка полученных данных.....	56
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	59
3.1. Полиморфизм микросателлитных локусов сортов.....	59
3.2. База данных микросателлитных локусов сортов красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК	69
3.3. Генетическая паспортизация сортов красной смородины.....	72
3.4. Изучение генетического разнообразия сортов красной смородины на основании кластерного анализа по данным микросателлитных локусов....	77

3.5. Исследование генетического разнообразия красной смородины с помощью GBS анализа	81
3.6. Анализ полиморфизма SSR локусов в расщепляющейся популяции ...	91
3.7. Построение генетической карты красной смородины на основании SNP и SSR маркеров.....	96
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	102
ВЫВОДЫ.....	104
РЕКОМЕНДАЦИИ	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	107
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	137
Приложение 1 – Сорты красной смородины (происхождение и оригинаторы).....	138
Приложение 2 – Приготовление лизирующего буфера рабочего раствора... ..	143
Приложение 3 – Генетические паспорта некоторых изученных сортов красной смородины.....	144

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ПЦР – полимеразная цепная реакция

СТАВ – цетилтриметиламмония бромид (cetyltrimethyl ammonium bromide)

PVP – поливинилпирролидон

ПААГ – полиакриламидный гель

SSR – simple sequence repeat

SNP – single nucleotide polymorphism

ГС – группа сцепления

СР – cross pollination

NGS – next generation sequencing

QTL – локус количественных признаков (quantitative trait loci)

PBA – pedigree based analysis

GWAS – полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association study)

MDS – анализ многомерного масштабирования

GBS – genotyping by sequencing – генотипирование путем секвенирования

об/мин – обороты в минуту

п.н. – пары нуклеотидов

PIС (Polymorphism Information Content) – индекс полиморфизма

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность и степень разработанности проблемы. На современном экономическом этапе развития садоводства в Российской Федерации роль сорта значительно возросла (Федеральный закон «О семеноводстве» от 30.12.2021 N 454-ФЗ; Клименков и др., 2022). Современный сорт должен обладать рядом хозяйственно-полезных и потребительских качеств: он должен выделяться хорошим качеством плодов, насыщенным биохимическим составом, пластичностью, адаптивностью, высокой степенью устойчивости к неблагоприятным факторам осенне-зимнего и весеннего периода, а также к жаре и засухе. Высокая стоимость пестицидов и взятый в мировом сельском хозяйстве курс на экологизацию наряду с усилением и появлением новых опасных патогенов ведёт к тому, что к сортам ужесточились требования по их устойчивости к болезням и вредителям. Устойчивый сорт – главная составляющая самозащиты культурного растения от возбудителей болезней и важный инновационный элемент в защите плодовых растений от вредных организмов. Устойчивость к болезням и вредителям – один из основных признаков, которым должен обладать новый перспективный сорт. Селекционные учреждения ведут непрерывную работу по своевременному пополнению сортимента сельскохозяйственных культур новыми высококачественными сортами, которые обходили бы своих «предшественников» по большинству хозяйственно-биологических признаков (Королькова, 2020).

Технологии выведения новых востребованных сортов стали центром инновационных исследований в научной деятельности. Однако, несмотря на весомый прогресс, как в научной сфере, так и в производственной, создание новых сортов – очень длительный, сложный и дорогостоящий процесс. Так, на выведение сорта красной смородины до передачи на государственное сортоиспытание необходимо минимум 14 лет. Эта проблема актуальна в той или иной степени для большинства плодово-ягодных культур (Князев,

Огольцова, 2004). Чтобы решить данную проблему, необходимо активное внедрение новейших методов селекции и сортоизучения.

Нынешний сортимент красной смородины позволяет возделывать культуру с внедрением инновационных промышленных технологий, в том числе и механизированной уборки урожая (Ковешникова и др., 2009). В последние годы сортимент данной культуры пополнился рядом высококачественных, урожайных сортов, обладающих повышенной устойчивостью к патогенам (в частности, устойчивыми к мучнистой росе) и высоким качеством плодов (Голяева, Панфилова, 2020). В садоводстве смородина красная занимает важное место как зимостойкая, высокоурожайная, скороплодная и раннеспелая культура, ягоды которой богаты биологически активными веществами, служат ценным сырьем для переработки (Макаркина, Голяева, 2013).

Селекция красной смородины во Всероссийском НИИ селекции плодовых культур (ВНИИСПК) начата в 1984 году селекционером Людмилой Васильевной Баяновой (Голяева, 2014). И в настоящее время продолжается селекционером Ольгой Дмитриевной Голяевой.

В связи с увеличением требований к конечному продукту сельскохозяйственной деятельности, классические методы исследования смородины красной дополняются наиболее точными и продуктивными инновационными молекулярными методами.

Создание новых сортов должно базироваться на знаниях структурной и функциональной организации генома смородины, а современные методы идентификации сортов, основанные на генетических паспортах, будут полезны как на стадии менеджмента коллекций генетических ресурсов, так и в защите прав селекционеров, сертификации посадочного материала, разрешении юридических споров (Pitsioudis et al, 2002).

Исследования сцепления генов – важнейший подход, который используется как для картирования генома, так и в генетико-селекционной

деятельности (Чесноков, 2018). Разработка генетической карты красной смородины и исследования по генетической паспортизации отечественных сортов ограничены работами нашей исследовательской группы (Пикунова и др., 2019; Пикунова и др., 2020; Должикова и др., 2021; Должикова и Павленко, 2021).

Таким образом, ДНК-паспортизация сортов и разработка генетической карты смородины красной (*Ribes rubrum*), с последующей локализацией в геноме количественных и качественных признаков, значимых для селекции, является актуальной задачей. В этой связи применение методов ДНК-генотипирования смородины красной, создание карт групп сцепления с помощью ДНК-маркеров будет способствовать разработке нового инструментария для эффективной работы с генетическими ресурсами и целенаправленному вовлечению хозяйственно-важных генов и аллелей в процесс селекции.

В классическом селекционном подходе генетическое разнообразие рассматривается на основе фенотипических данных и родословных. Однако родословные часто неизвестны, имеют неполную информацию либо могут содержать ошибки. Так же нестабильная таксономическая классификация внутри рода смородины вносит долю неопределенностей и ставит новые задачи по изучению генетического разнообразия рода. В данных исследованиях впервые применен метод генотипирования путем секвенирования (GBS) для изучения генетического разнообразия генофонда красной смородины.

Цель исследований: изучение генетического разнообразия и структурной организации генома красной смородины *Ribes rubrum* с помощью ДНК-маркеров для повышения эффективности селекционного процесса.

Задачи проведения исследований:

1. Изучить полиморфизм микросателлитных локусов сортообразцов красной смородины (*Ribes rubrum*) биоресурсной коллекции ВНИИСПК.
2. Сформировать базу данных (БД) микросателлитных локусов сортов красной смородины.
3. Составить генетические паспорта сортов красной смородины на основании полиморфизма микросателлитных локусов.
4. Построить дендрограмму генетического сходства сортов красной смородины в целях проверки родословных у родственных сортов на основании полиморфизма микросателлитных локусов.
5. Провести изучение генетического разнообразия генофонда красной смородины методом генотипирования путем секвенирования (GBS) на основе выявленных SNP маркеров.
6. Составить генетическую карту групп сцепления красной смородины с применением SSR и SNP ДНК-маркеров.

Научная новизна. Впервые с использованием SSR и SNP маркеров методом высокопроизводительного генотипирования (GBS) проведена масштабная работа по изучению генетического разнообразия красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК.

Впервые в мире построена генетическая карта красной смородины, на основе подобранных ДНК-маркеров.

Практическая значимость. Разработаны методики ДНК-идентификации сортов красной смородины, применимые для практического использования и обладающие большой степенью информативности для определения сортовой принадлежности.

Созданные ДНК-паспорта могут использоваться для идентификации сортовой принадлежности и при необходимости – для защиты авторских прав.

Генетическая карта, разработанная на основе SSR и SNP маркеров, послужит основой для локализации в генотипе генов, детерминирующих хозяйственно-ценные признаки.

Разработанная методическая база (набор микросателлитных локусов, условия их амплификации и детекции, возможность мультиплексирования, выявленные редкие и уникальные аллели) формализует процесс ДНК-идентификации сортов красной смородины, что очень важно, как для научно-селекционных учреждений, так и в интересах производства красной смородины.

Положения, выносимые на защиту

1. Высокий уровень аллельного разнообразия сортов красной смородины коллекции ВНИИСПК, выявленный при помощи микросателлитного анализа позволил выявить уникальные и редкие аллели и уникальные сочетания аллелей, что свидетельствует о разнообразии изучаемой коллекции.
2. Разработанная база данных полиморфизма 14 микросателлитных локусов 74 сортообразцов красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК основанная на подборе наиболее полиморфных и информативных локусов может быть использована в селекции для оценки генетической подлинности, изучения генетического разнообразия исходных форм, менеджмента генетических коллекций.
3. Полученная первая в мире генетическая карта смородины красной с применением микросателлитных и SNP ДНК-маркеров в дальнейшем послужит основой для локализации в геноме генов, детерминирующих хозяйственно-ценные признаки.

Апробация результатов работы. Материалы диссертации представлены и доложены на международных и всероссийских конференциях: VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ (г. Санкт-Петербург,

2019); Региональной научно-практической конференции «Наука без границ и языковых барьеров» (ГАУ, г. Орел, 2020); Всероссийской научно-практической онлайн-конференции молодых учёных и специалистов «Молодые учёные и инновационная сельскохозяйственная наука» (ФГБНУ ВНИИСПК, г. Орёл, 2021); XXI-ой научной конференции молодых ученых «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии» (ФГБНУ ВНИИСБ, г. Москва, 2021); Всероссийская конференция «Генетические ресурсы растений для генетических технологий: к 100-летию Пушкинских лабораторий ВИР» (г. Санкт-Петербург, 2022); Всероссийской научно-практической онлайн-конференции молодых учёных и специалистов «Достижения и перспективы молодых учёных в науке» (ФГБНУ ВНИИСПК, г. Орел, 2023); Всероссийской научной конференции, проходящей в рамках Второго научного Форума «Генетические ресурсы России» Генетические ресурсы растений для генетических технологий (г. Санкт-Петербург, 2023).

Публикации результатов исследований. По материалам диссертационных исследований опубликовано 12 статей, в том числе в журналах, рекомендованных ВАК, и входящих в международные системы цитирования Scopus и Web of Science.

Личный вклад соискателя. Результаты исследований получены автором лично и совместно с сотрудниками лаборатории биохимической генетики отдела биотехнологии и молекулярной генетики и лаборатории селекции и сортоизучения смородины Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур.

Государственные контракты и гранты. Работа выполнялась при поддержке:

1. Проекта РНФ 18-76-00032 «Изучение генома смородины (*Ribes L.*) с помощью ДНК маркеров»
2. Государственного задания по тематикам:

«Сохранить, пополнить и изучить генофонд плодовых, ягодных и декоративных растений с целью выделения комплексных доноров и генисточников хозяйственно-ценных признаков для создания новых сортов (FZUS-2019-0017)»;

«Использование физиолого-биохимических и генетических, биотехнологических методов в селекции плодовых культур на улучшение хозяйственно-ценных признаков, адаптивность и управление продукционным процессом (FGZS-2019-0001)»;

«Создание новых конкурентоспособных, адаптивных генотипов ягодных культур с использованием инновационных методов селекции и разработка экологически безопасных элементов технологии выращивания и переработки (FGZS-2022-0007)».

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 160 страницах. Состоит из введения, основной части, содержащей 9 таблиц и 10 рисунков, заключения, выводов, рекомендаций, списка литературы, приложений.

Благодарности. Автор выражает благодарность научному руководителю кандидату биологических наук Пикуновой Анне Викторовне за научные и методические рекомендации, за постоянное внимание к работе, просмотр и редакцию рукописи, ценные замечания.

Автор выражает благодарность Голяевой Ольге Дмитриевне, кандидату сельскохозяйственных наук, селекционеру за помощь в подборе объектов исследований, предоставление растительного материала, за ценные советы и помощь на протяжении всего периода выполнения и написания диссертационной работы.

Автор выражает благодарность биоинформатикам Денису Валерьевичу Горюнову (Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова) и Светлане Валерьевне Горюновой (Федеральный исследовательский центр

картофеля им. А.Г. Лорха) за помощь в проведении ряда биоинформатических расчетов, представленных в данной научной работе.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Красная смородина как сельскохозяйственная культура

Ribes – единственный род семейства *Grossulariaceae* DC., который насчитывает от 150 до 200 известных видов. По морфологии *Ribes* был включен в семейство *Saxifragaceae* (Lingdi et al., 2001), но в настоящее время его признают единственным родом в семействе *Grossulariaceae*.

Виды *Ribes* представляют собой кустарниковые растения, распространённые, в первую очередь, на умеренных территориях северного полушария. Существует несколько таксономических классификаций данного рода, однако наиболее качественно разработанными и точными считаются те, которые основаны либо на морфологических особенностях растений (Rehder, 1954), либо на возможности скрещивать виды между собой. Многие систематики выделяли два рода: *Ribes* (виды смородины) и *Grossularia* Hill. (виды крыжовника) (Berger, 1924). По мнению Brennan (2008), Hummer и Barney (2002) общепринятой всё же является систематика *Ribes* которая была предложена Э. Janczewski (1907). Janczewski разделял *Ribes* на шесть подродов: *Grossularioides*, *Parilla*, *Berisia*, *Coreosma*, *Ribesia* и *Grossularia*, в зависимости от характеристик цветка, включая текстуру чешуек почек, а также наличие или отсутствие цветоножки, плодоножки, шипов на ветвях (Janczewski, 1907).

Ареал подрода *Ribesia* охватывает всю европейскую часть, Западную, Восточную Сибирь и Дальний Восток. На севере он заходит в Швецию, Норвегию, на юге – в Италию и Грецию. В Азии ареал на востоке охватывает Японию и Курильские острова, южная граница которого проходит по Киргизским степям, Гималаям и через Китай. Почти все современные сорта красной смородины являются сложными межвидовыми гибридами (Аладина, 2007).

Филогения *Grossulariaceae* и внутриродовые отношения рода *Ribes* остаются весьма спорными (Weigend, 2007). Классификация *Ribes* на данный момент остается также неясной из-за широкого географического распространения, большой доли межвидовой гибридизации и высокого спектра фенотипического разнообразия (Keep, 1963; Weigend, 2007; Zhang et al., 2023). На протяжении многих лет классификация таксонов данного рода остается темой дискуссий и новых научных исследований, направленных на решение проблемы таксономической систематики данного рода (Sun et al., 2023; Pikunova et al., 2023 и др.). Это говорит о том, что специалистам ещё предстоит провести большую работу по окончательному приведению в порядок таксономии и филогении рода *Ribes* (Пикунова и др., 2011).

Почти все современные сорта красной смородины были получены от таких видов, как садовая смородина (*R. vulgare* Lam.), крупноплодный сорт (*R. vulgare* var. *macrocarpum*), красная смородина (*R. rubrum*), красная смородина скалистая (*R. petraeum* Wulf.), многоцветковая смородина (*R. multiflorum* Kit.), смородина Варшавича (*R. warscewiczii* Jancz.), смородина Пальчевского (*R. palczewskii* (Jancz.) Pojark) и их гибриды. Другие виды и их гибриды ценны как исходный материал для дальнейшей селекции (Огольцова и др., 2009).

Красная смородина относится к секции *Ribesia* Berl. рода *Ribes* (Rehder, 1954). *Ribesia* включает красную европейского происхождения (*R. rubrum*), с. садовую (*R. vulgare*), с. многоцветковую (*R. multiflorum*), с. скалистую (*R. petraeum*) (также встречается в Северной Африке) и *R. pubescens* (C. Hartm Held.). В Восточной Сибири и на Дальнем Востоке смородина Пальчевского (*R. palczewskii*), с. Варшевича (*R. warscewiczii*) (не встречается в диком виде), с. темно-пурпуровая (*R. atropurpureum* С.А. Мей), с. щетинистая (*R. hispidulum* (Jancz.) Pojark.), с. Мейера (*R. meyeri* Maxim), с. высочайшая (*R. altissimum* Turcz.) и китайский вид смородины (*R. longiracemosum* Franch.) (Огольцова и др., 2009).

Ареал подрода *Ribesia* охватывает всю европейскую часть, Западную, Восточную Сибирь и Дальний Восток. На севере он заходит в Швецию, Норвегию, на юге – в Италию и Грецию. В Азии ареал на востоке охватывает Японию и Курильские острова, южная граница которого проходит по Киргизским степям, Гималаям и через Китай. Почти все современные сорта красной смородины являются сложными межвидовыми гибридами (Аладина, 2007). Высокая пластичность и неприхотливость смородины позволяют её возделывать от западных до восточных границ России. Если выращиваются оптимальные для региона сорта, смородина может дать высокие урожаи и в Заполярье.

Красная смородина – высокоурожайная и зимостойкая ягодная культура. Ее ягоды содержат значительный набор витаминов, микроэлементов, сахаров, органических кислот, а также пектины, антоцианы и дубильные вещества (Verk et al., 2020; Новикова и др. 2022; Макаркина и др., 2000; 2020, 2023). В пищевой промышленности ягоды используют для приготовления соков, морсов, желе, мармелада, вина (Осипова и др., 1995; Левгерова и др., 2010; Асманова и др. 2021; Салина и др., 2020, 2023). Большой генетический потенциал адаптивности смородины красной к различным почвенно-климатическим условиям позволяет ее возделывать практически во всех регионах России (Огольцова, Помология Том IV., 2009).

Красная смородина имеет высокий потенциал продуктивности. Однако реализация зависит от ряда причин, к которым относятся: генотип растений, их возраст и состояние, погодные условия во время цветения и формирования ягод, уровень агротехники (Шитт, 1958). Фактическая или хозяйственная урожайность часто не отражает потенциальные возможности сортов (Горбунов и др., 2013).

Большое внимание на смородину было обращено после того, как ученые выяснили, что культура богата антицинготным витамином С. Розанова Г.И. в книге «Ягодоведение и ягодоводство» (1935) приводит

сведения, что к 1934 году площадь под черной смородиной увеличилась до 12-15 тыс. га, красная смородина занимает около 5 тыс. га, ... «в дальнейшем большого увеличения не предполагается, так как основной упор делается на черную смородину».

Российский сортимент красной смородины создавался и развивался в первую очередь за счёт использования интродуцированных зарубежных сортов (Баянова, Голяева, 1999). На сегодняшний момент Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур (ВНИИСПК г. Орёл) располагает одной из крупнейших в мире биоресурсных коллекций красной смородины, состоящей более чем из 80 сортов как российского, так и иностранного происхождения (<https://vniispk.ru/docs/bpk/2022-03/11-red-white-currant.pdf>).

Данная коллекция пополняется новыми сортами, которые обязательно проходят изучение на предмет возможности возделывания в определённых почвенно-климатических условиях и наличия тех или иных хозяйственно-ценных признаков, а также степени их выраженности. Данная биоресурсная коллекция служит источником для ведения селекции красной смородины на комплекс важных хозяйственно-биологических показателей и получения новых сортов красной смородины (Голяева, 2015). Как результат многолетней целенаправленной селекции в ФГБНУ ВНИИСПК создано и передано на государственное испытание 21 сортов красной смородины, из которых 13 сортов внесены в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Данные сорта улучшили имеющийся сортимент смородины красной по Центрально-Черноземному региону (Голяева, 2010; 2018).

Основой селекционных исследований и получения новых сортов и форм остаётся скрещивание генетически и географически разных образцов для получения нового генотипа с желаемыми качествами и свойствами. Этот процесс, в том числе и у ягодных культур, длится сравнительно долгое

время. Как правило, в селекционных программах используют такие родительские формы, которые обладают теми свойствами и качествами, которых нет у другой родительской формы, чтобы на выходе получить новый генотип, обладающий всеми желаемыми свойствами. Выявление генетического родства помогает целенаправленнее находить родительские пары к скрещиванию, формируя разнообразные на генетическом уровне и высокоадаптивные сорта. Генетическое различие исходных сортов и форм в селекции смородины – база формирования долговременно устойчивых сортов.

Для успешной селекции недостаточно ограничиваться только традиционными методами (гибридизацией и другими). Следует сочетать данные методы с новыми, связанными с исследованиями на генетическом уровне. Один из наиболее перспективных методов для селекции красной смородины и других сельскохозяйственных культур – использование ДНК-маркеров.

Эксперименты Г. Менделя по генетической наследственности в XIX веке заложили научную основу понимания генетики свойств растений и улучшения урожайности путем систематической селекции растений (Abe et al, 2012).

1.2. ДНК-маркеры как инструмент изучения генома

Как известно, геномная ДНК является основным носителем наследственной информации, а изменения в макромолекулах ДНК могут играть существенную роль в проявлении наследственной изменчивости (Алтухов, Салменкова, 2002; Чесноков, Кочерина 2019; Сулимова, 2004). Поэтому выявление изменений, происходящих в геноме на молекулярном уровне, является фундаментальной задачей для генетики и селекции (Чесноков, 2013).

В последние годы уделяется особое внимание к изменениям, происходящим в геноме, вплоть до изучения изменений, происходящих на

уровне одного единственного нуклеотида, что позволяет более точно подбирать родительские пары для скрещивания, исходя не только из морфологических признаков, но и из установленных на молекулярном уровне отличий между различными генотипами и даже аллелями (Хлесткина, 2011).

Важный и очень значимый молекулярно-биологический селекционный метод, который уже достаточно успешно применяется в практической селекции – это ДНК-маркирование (Collard et al., 2005; Reddy et al., 2021). Прогресс, достигнутый в технологии ДНК-маркеров, огромен. ДНК-маркеры предоставляют ценные инструменты для различных анализов, начиная от филогенетического анализа и заканчивая позиционным клонированием генов (Kumar, 1999).

Молекулярные маркеры – это идентифицируемые последовательности ДНК, которые находятся в определенных местах генома и передаются по стандартным законам наследования от одного поколения к следующему. Молекулярные маркеры – это инструменты, используемые для изучения разнообразия на уровне ДНК (полиморфизма) и помогающие селекционерам идентифицировать конкретные сегменты хромосом, содержащие интересующие гены (Mandal et al., 2018; Мухина, 2012).

Эпоха разработки и применения молекулярных маркеров началась ещё в 1980-х годах. Спустя десятилетия, в исследованиях генома растений началось создание ДНК-маркеров на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР). С тех пор маркеры начали применяться в селекции растений (Nadeem et al., 2018), а достижения в различных аспектах генетики растений позволили ещё глубже понять природу молекулярных маркеров, генетическое разнообразие различных видов растений и в большой мере способствовали увеличению успехов в молекулярной селекции растений, что в свою очередь привело к появлению новых методов на основе молекулярных маркеров, которые значительно облегчают исследования во

многих областях выращивания сельскохозяйственных культур (Hailu, Asfere, 2020). ДНК-маркеры востребованы в селекции по признакам, фенотипическая оценка которых является сложной процедурой, а также в селекционных программах, направленных на объединение ряда генов в одном генотипе (Супрун и др., 2019).

В настоящее время существует несколько десятков различных типов молекулярных маркеров. С генетической точки зрения молекулярно-генетические маркеры, удовлетворяющие критериям определения «хорошего» молекулярно-генетического маркера, можно разделить на индивидуально определяемые, как правило, кодоминантные, и на те, которые являются множественными, как правило, доминантные маркеры. Эти различия упрощены и весьма условны: так, при желании можно выявить локуспецифичный и доминантный маркер. Тем не менее, данная классификация соответствует двум основным характерным типам использования маркеров (Календарь, Глазко, 2002; Чесноков, 2020; Ford, 1945; Serrote et al., 2020 и др.).

За последние десятилетия накоплен большой теоретический и практический опыт использования ДНК-маркеров для изучения генетического разнообразия, построения молекулярно-генетических карт, картирования генов и локусов количественных признаков и применения технологий молекулярного маркирования для создания коммерческих сортов и селекционных линий (Азарин и др., 2012; Хлесткина, 2015; Хлесткина и Салина, 2006; Пикунова и др., 2019; Brennan et.al., 2002, 2008; Phillips, Vasil 2013 и др.).

Условно можно выделить основные направления использования молекулярных маркеров при работе с генетическим материалом растений:

1. изучение структурной и функциональной организации генома;

2. поиск нового генетического разнообразия внутри популяций, отдельных видов и их структурных комбинаций (Чесноков, 2018), анализ межвидовых связей и анализ родства видов и генотипов;
3. построение насыщенных генетических карт с последующей локализацией хозяйственно-полезных признаков (Чесноков, 2018);
4. создание коллекций на основе использования молекулярных маркеров: идентификация и регистрация образцов коллекции (Phillips, Vasil, 2013);
5. охрана авторских прав: решение спорных вопросов авторства сортов и образцов сельскохозяйственных растений и др.

ДНК-маркеры могут быть полезны для определения индивидуальных генотипических различий внутри одного или между разными видами. Полиморфизмы молекулярных маркеров обусловлены различными типами мутаций ДНК, которые создают различия в нуклеотидных последовательностях между организмами. Как правило, маркерные полиморфизмы в организмах – это последствия точечных мутаций, (возникающих в результате однонуклеотидных замен), перестроек в виде вставок (могут быть вызваны ретротранспозонами) или делеций, дупликаций участков ДНК, транслокаций и инверсий, а также ошибок при репликации tandemно повторяющихся ДНК (Selvakumari et al., 2017).

Важное преимущество ДНК-маркерных технологий состоит в том, что они позволяют найти отличия между двумя близкородственными организмами, что в ряде случаев крайне сложно или вовсе невозможно сделать с помощью других видов маркеров. Те маркеры, которые позволяют найти различия между исследуемыми генотипами, называют полиморфными, тогда как маркеры, не дающие подобной возможности, называют мономорфными (Чесноков, 2013).

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) - анализ – один из наиболее известных методов амплификации с достаточно короткими праймерами, в произвольном порядке отбирающими те или иные участки генома (Babu et al,

2021; Moreno, 1995). RAPD-анализ достаточно хорошо изучен и описан в ряде научных публикаций (Хавкин, 2003; Чесноков, 2013; Premkrishnan and Arunachalam, 2012; Cao et al., 2015 и другие). Однако данный метод имеет определённый и весьма существенный недостаток, заключающийся в преимущественно доминантном характере наследования RAPD фрагментов (Хавкин, 1997; Rajesh et al., 2014). Однако возможно переделать RAPD фрагмент в более эффективные маркерные системы, такие как SCAR, SRAP и CAPS (Yang et al., 2014; Babu et al., 2021). Эти улучшенные варианты маркеров RAPD преодолевают связанные с ними недостатки и дополняют эффективность применения маркера. Также ограничения, присутствующие в методах RAPD и RFLP, были преодолены благодаря разработке маркеров AFLP.

AFLP-анализ подразумевает использование маркеров полиморфизма длин амплифицированных фрагментов ДНК (Vos et al., 1995; Gobert et al., 2006). Технически AFLP-анализ проводится сложнее, чем RAPD, но при этом при правильном исполнении он бывает более производительным. Исследования с использованием AFLP-метода, проведённые турецкими учёными, позволили установить, что генотипы красной и черной смородины очень сильно различаются на генетическом уровне и количество общих AFLP-маркеров у них невелико. При помощи дендрограммы удалось определить предполагаемое сходство генотипов смородины. Высокий уровень данного генетического разнообразия связан, скорее всего, с тем, что чёрная и красная смородина относятся к разным видам. Как известно, черная смородина относится к *Ribes nigrum*, тогда как красная смородина может относиться к *Ribes sativum*, *Ribes rubrum*, *Ribes petraeum* Wulfen. Однако в рамках вида генетическое разнообразие чёрной смородины оказалось сравнительно слабым. Из этого можно предположить, что генотипы чёрной смородины, который были изучены в рамках данного исследования, обладают общим генетическим фоном (Ipek, et al., 2010).

ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) – анализ полиморфизма участков,

расположенных в промежутках между микросателлитными локусами (Zietkiewicz et al., 1994). Это относительно быстрый и малозатратный метод. Благодаря сравнительно большой длине праймера и повышенной температуре отжига он отличается повышенной воспроизводимостью результатов по сравнению с RAPD-методом.

Микросателлитные последовательности – это геномные регионы, состоящие из простых мотивов коротких последовательностей ДНК, обычно ди-, три- и тетра- или пента-нуклеотидов, повторяющихся несколько раз в тандеме. ISSR распространены повсеместно и случайно распределены по всему геному. Размер промежуточной последовательности нуклеотидов ДНК между микросателлитами должен находиться в диапазоне размеров, который подходит для успешной ПЦР-амплификации (Serwat et al., 2016).

Применение ISSR-маркеров позволяет обойти большинство практических ограничений SSR, AFLP и RAPD-анализа (Padmakar et al., 2015; Ali et al., 2019). ISSR применяется для получения информации о близкородственных или отдаленных видах, в исследованиях генетического разнообразия и филогении, картирования генома, и эволюционной биологии (Thakur et al., 2016).

Сотрудники НИИ садоводства в Польше проводили исследования ДНК-маркеров с помощью RAPD-методов и ISSR-методов на красной и чёрной смородине, а также на крыжовнике. Проведённые исследования позволили выявить генетическое расстояние между генотипами и определить уровень их родства. Выяснилось, что данные о генетическом сходстве, полученные ISSR-методом, отличаются от информации, полученной при использовании RAPD-метода (Mazeikiene, 2012). Так же для идентификации используют микросателлитные маркеры с хорошей воспроизводимостью, (Пикунова и др., 2019).

SSR (simple sequence repeat) – маркеры ограничивают повторы простых последовательностей ДНК. Повторы простых последовательностей (SSR) – это последовательности ДНК, размер повторяющейся единицы которых не

превышает 1-10 нуклеотидных пар (Tautz, Renz, 1989; Hayes et al., 2001). На красной смородине первые микросателлитные маркеры были созданы шотландскими специалистами в начале 2000-х (Brennan et al., 2002).

Полиморфные профили SSR у растений возникают из-за изменения количества повторений SSR-мотивов. Доступность данных EST (Expressed Sequence Tags – маркеры к экспрессирующимся последовательностям генома), полные последовательности генома (для некоторых видов) и библиотеки служат основой для создания SSR-праймеров (Yan et al., 2017). По сравнению с анализом RAPD или ISSR, где для каждой реакции ПЦР используются одиночные праймеры, локусы маркеров SSR генерируются с помощью реакций ПЦР с двумя праймерами. Один праймер отжигает с ДНК-матрицей в прямом направлении, а другой праймер гибридизуется с матрицей в обратной ориентации. Оба праймера отжигают комплементарно специфическим последовательностям ДНК, фланкирующим последовательность SSR (Mei et al., 2015). В амплификации обычно применяют сравнительно длинные праймерные пары (примерно 18-20 пар нуклеотидов), что увеличивает специфичность. SSR применяют и в фундаментальных исследованиях по оценке генетического полиморфизма, изучения филогенетических отношений, построения генетических карт для групп сцепления, и в прикладных целях – для изучения родословных, формирования идентификационных и паспортных систем, поиске маркеров, связанных с важными хозяйственно-биологическими качествами и свойствами, при маркер-вспомогательном отборе интересных с генетико-селекционной точки зрения генотипов в начале онтогенеза растений (Kalia et al., 2011).

Микросателлитные маркеры могут быть отнесены к тем типам маркеров, которые оптимально подходят для формирования системы генетического маркирования для идентификации генотипов и уточнения генезиса. Поэтому крайне важно грамотно подобрать информативные и полиморфные локусы для поиска близкородственных генотипов (Хлесткина,

2015).

SSR были впервые обнаружены у растений в 1984 году, а их полезность в качестве молекулярных маркеров была осознана лишь пять лет спустя в 1989 году (Tautz, 1989; Weber, May, 1989). В своей работе Tautz (1989) использовал процесс полимеразной цепной реакции (ПЦР), чтобы показать, насколько случайно выбранные локусы простых последовательностей с разным нуклеотидным составом и принадлежащих к разным видам демонстрируют обширный полиморфизм и сделал утверждение, что данные маркеры могут быть использованы для проверки идентичности, популяционных исследований, анализа сцепления и картирования генома (Brennan et.al., 2002, 2008 и др.).

С тех пор SSR были разработаны и использованы в качестве молекулярных маркеров для очень широкого спектра видов сельскохозяйственных культур, таких как пшеница, рис, соя, картофель, яблоня, груша, слива, черешня, малина, смородина и другие (Антонова и др., 2016; Бирюкова и др., 2003; Коломыцева и Рамазанова, 2019; Хлесткина и Салина, 2006; Devos et al., 1995; Li et al., 2008; Plaschke et al., 1995; Yang et al., 1994; Аккава, 1992 и др.).

В исследованиях М. Savanna с соавт. (2009) 20 SSR маркеров прошли исследование на предмет амплификации и полиморфизма на 41 представителе рода *Ribes*, было отобрано в результате 13 наиболее полиморфных локусов, которые впоследствии были изучены на всех сортах. Благодаря этому удалось идентифицировать 38 генотипов представителей рода *Ribes*. С применением 13 SSR маркеров средний показатель наблюдаемой гетерозиготности достиг 0,596, что является сравнительно высоким показателем. Тем не менее, до сих пор при исследованиях рода *Ribes* внимание уделяется в первую очередь именно чёрной смородине, тогда как красная смородина изучается не настолько широко, следовательно, по этой культуре имеется не так много полученных сведений.

Группой российских ученых (Vidyagina et al., 2021) были разработаны микросателлитные маркеры для крыжовника (*Ribes uva-crispa*). Были прогенотипированы 22 сорта крыжовника различного географического происхождения, с использованием набора из 21 микросателлитного маркера (19 из которых не опубликованы ранее). В девяти локусах обнаружен полиморфизм.

На сегодняшний день SSR маркеры (наряду с SNP маркерами), обладают наибольшей разрешающей способностью для описания внутривидового полиморфизма (Blouin et al., 1996; Palombi, Damiano, 2002).

Важная характерная черта SSR-метода, которая несколько усложняет его проведение, заключается в том, что на каждый вид растений здесь нужен свой уникальный набор SSR-маркеров. При их создании праймеры подбирают с таким подходом, чтобы они обладали высоким уровнем специфичности и, по возможности, обладали одним сайтом связывания в геноме изучаемого вида, иными словами, обладали монолокусностью. Место расположения SSR маркеров внутри генома уточняют путём генетического картирования. Многие из SSR-маркеров, разработанных для одного вида, могут использоваться и при исследовании близкородственных видов за счёт консервативности их генома, однако так бывает не всегда. SSR-аллели наследуются как кодоминантные маркеры (Гостимский, 1999). По сравнению с другими типами ДНК-маркеров, система SSR маркеров имеет высокую разрешающую способность. Отдельные SSR маркеры, применяемые в генетической идентификации сортов и форм, сцеплены с важными хозяйственно-биологическими качествами и свойствами (Tanksley, 1983, 1988).

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) – однонуклеотидный полиморфизм (Brookes, 1999). SNP анализ считается одним из наиболее эффективных ДНК-маркеров для выявления внутривидового полиморфизма, что имеет колоссальное значение для генетической паспортизации сортов

культурных растений (Mammadov et al., 2012; Калько, 2015). По сравнению с другими генетическими маркерами, SNP являются наиболее часто встречающейся формой полиморфизма последовательностей ДНК в организмах (Manivannan et al., 2021). SNP обычно локализуются в кодирующих и некодирующих, а также межгенных областях геномов с различной распространенностью в каждой из этих областей генома с частотой одного SNP на каждые 100-300 п.н. (Fusari et al., 2008). Повышенная распространённость SNP в геномах растений, возможность автоматизировать процесс анализа позволяют использовать данные маркеры для формирования молекулярно-генетических карт повышенной плотности, молекулярного диагностирования важных хозяйственно-биологических качеств и так далее (Vignal et al., 2002).

В последние годы SNP маркеры вызвали большой интерес в научном и селекционном сообществе (Rafalski, 2002). Они встречаются практически в неограниченном количестве. Потенциал SNP маркеров наглядно продемонстрирован при анализе генома человека. На основе масштабных исследовательских усилий в полной последовательности генома человека было идентифицировано несколько миллионов SNP маркеров и разработаны технологии для одновременного анализа большого количества SNP маркеров (до 1 миллиона). При таком большом количестве маркеров стало возможным сканировать весь геном с чрезвычайно высокой плотностью маркеров на предмет ассоциаций отдельных маркеров со специфическими количественно унаследованными признаками, что называется сканированием всего генома (WGS), общегеномными ассоциативными исследованиями (GWAS) или генетикой ассоциаций (Ganal et al., 2009; Смарагдов, 2009).

Обнаружению SNP маркеров способствуют технологии секвенирования следующего поколения (NGS), позволяющие получать от нескольких сотен миллионов до нескольких сотен миллиардов оснований ДНК за один прогон (Shendure and Ji, 2008). Для этих целей спользуется

несколько платформ NGS, таких как Illumina MiSeq и HiSeq2500, Ion Torrent PGM и другие. Технологии высокопроизводительного секвенирования предназначены для снижения стоимости секвенирования ДНК (Jaganathan et al., 2020).

Для дальнейшего расширения использования NGS для геномов крупных сельскохозяйственных культур, таких как кукуруза и пшеница, было разработано и применено генотипирование с помощью секвенирования (GBS) при секвенировании мультиплексированных образцов. GBS – это новое применение протоколов NGS для обнаружения и генотипирования SNP в геномах сельскохозяйственных культур и популяциях. Подход GBS включает расщепление геномной ДНК рестрикционными ферментами с последующим лигированием адаптера штрих-кода, ПЦР-амплификацию и секвенирование пула амплифицированной ДНК (Гусева и др., 2015). Биоинформатические работы необходимы для анализа и интерпретации наборов данных GBS. Как основной инструмент MAS и экономически эффективный метод, GBS успешно используется при проведении общегеномных ассоциативных исследований (GWAS), изучении геномного разнообразия, анализе генетических связей, обнаружении молекулярных маркеров и геномной селекции в рамках широкомасштабных программ селекции растений (He et al., 2014).

Генотипирование с помощью секвенирования является идеальной платформой для исследований, начиная от отдельных генных маркеров и заканчивая полногеномным профилированием (Poland et al., 2012). GBS предоставляет быстрый и недорогой инструмент для селекции популяций по генотипу, позволяющий селекционерам растений внедрять GWAS, изучать геномное разнообразие, анализировать генетические связи, обнаруживать молекулярные маркеры. Предварительное наличие секвенсов геномов видов не требуется (Poland et al., 2012).

Насколько нам известно, представленные в данной работе результаты исследований с использованием GBS-анализа – это первое масштабное исследование генетического разнообразия красной смородины, основанное на данных высокопроизводительного генотипирования (Pikunova et al., 2022).

DArT – это универсальный метод гибридизации на основе микрочипов, высокопроизводительный и воспроизводимый подход к обнаружению присутствия и отсутствия отдельных фрагментов для анализа ДНК. Этот метод оказался настолько эффективным, что даже один анализ DArT способен одновременно генотипировать тысячи полиморфных локусов, распределенных по геному (van Deventer et al., 2020).

Красная смородина недостаточно изучена с генетической точки зрения, особенно в сравнении с её ближайшими родственниками – чёрной смородиной и крыжовником. Все виды, относящиеся к *Ribes*, обладают диплоидным геномом из восьми пар хромосом ($2n=2x=16$). Размер генома, выявленный при использовании проточной цитометрии, для *R. petraeum*, *R. rubus* L., *R. uva-crispa* L. в среднем равен $2C = 1,91$ пг, содержание GC-пар - 40,4 % (Chiche et al., 2003). Полиплоидия в эволюционном процессе красной смородины повлияла на процесс образования форм весьма незначительно.

ДНК-маркерные технологии нашли применение не только в маркерной селекции, но и в исследованиях генетического разнообразия, классификации, паспортизации сортов, картировании и изучении физической природы генов (Gupta et al., 1999).

1.3. Методы ДНК-идентификации, система генетической паспортизации для востребованных в производстве сортов

Вопросы эффективной идентификации видов растений, а также отслеживания их филогенетических отношений вызывали интерес на всем протяжении развития биологической науки. Близкие растительные виды не всегда можно отличить друг от друга. Такое происходит либо из-за повышенного полиморфизма внутри каждого из видов, либо, наоборот, из-за

слишком сильного межвидового морфологического сходства (такое возникает, например, в случае с видами-двойниками). В то же время важность данной процедуры не вызывает сомнений, и проблемы с её проведением не должны превращаться в существенное ограничение. Стоит искать и разрабатывать какие-либо новые методы для решения данной проблемы, которое никак бы не повлияло на точность и достоверность полученных результатов (Матвеева и др., 2011).

Примерно до 1970-1980-х специалисты в ходе исследования генетических ресурсов растений ограничивались применением только методов и возможностей классической генетики и селекции растений. С их помощью накоплен огромный фактический материал, представляющий несомненный интерес, как для генетики, так и практической селекции растений. Классические методы позволяли достаточно успешно решать все возникавшие проблемы и формировать сорта, отвечавшие требованиям со стороны практического производства. Но, как справедливо отмечают Tanksley и McCouch (1997), старая парадигма «поиска по фенотипу», которая основана только на исследовании фенотипических признаков и на последующей работе с ними, к концу прошлого столетия практически изжила себя. Данная парадигма ещё могла бы сравнительно эффективно проявлять себя, если бы каждое исследуемое хозяйственно-биологическое качество находилось бы под контролем одного или нескольких генов (Tanksley and McCouch, 1997). Некоторое оживление в данные методы привнесли исследования биохимических признаков, начавшиеся ещё в 1960-1970-е, однако это всё те же фенотипические признаки, которые проявляются не на морфологическом, а на биохимическом уровне. Перед селекционерами всё так же стояла задача – создать продукт, который отвечал бы всем необходимым требованиям со стороны производства.

Идентификация сортов сельскохозяйственных культур – один из важнейших на сегодня этапов селекционного процесса, питомниководства и

коммерческого распространения сортов. Идентификация сортов обеспечивает защиту авторских прав селекционных учреждений, позволяет следить за чистотой сорта и соответствием его известному стандарту (Урбанович и др., 2006).

В основу идентификации сортов сельскохозяйственных растений положены морфологические признаки. Для каждого вида сельскохозяйственных растений разработаны свои методы идентификации. Общим для методов идентификации по морфологическим признакам является то, что они требуют анализа определенной стадии развития растения. Весь процесс идентификации сортов по морфологическим признакам долгосрочный. Это затрудняет его применение в решении ряда практических задач, например, определении сортовой принадлежности посадочного материала. Помимо этого, существенным недостатком морфологических признаков является то, что проявление некоторых из них может зависеть от условий окружающей среды. Кроме того, морфологические признаки имеют некоторые существенные ограничения, связанные с субъективностью в анализе. Соответственно, чем больше генотипов необходимо идентифицировать, тем сложнее их описать морфологически (Коробкова и др., 2008; 2011; Межнина и др., 2017).

В то же время методы, основанные на использовании ДНК-маркеров, имеют ряд преимуществ, к числу которых можно отнести то, что они дают высоковоспроизводимые результаты и незаменимы в спорных случаях, когда применение традиционных подходов не позволяет достоверно различить исследуемые образцы (Картель и др., 2009). ДНК-исследования лишены всех тех недостатков, которыми обладает морфологический и биохимический анализ. Очевидно, что в ближайшие годы он получит всё большее распространение. Он определённо не вытеснит морфологический и биохимический анализы, но эффективно дополнит их.

При работе с красной смородиной, как и любой другой сельскохозяйственной культурой, важной частью селекционной работы является изучение генетического разнообразия сортов с последующим составлением идентификационных формул (паспортизация коллекционных образцов). Для идентификации сортов смородины красной используются количественные и качественные признаки, которые определяются визуально. Однако данные признаки зависят от внешних факторов. В результате возникают сложности в идентификации. В этой связи наиболее надёжной и качественной системой маркирования сортов можно считать генетическую идентификацию сорта, то есть метод получения генетически детерминированных качеств при использовании специальных молекулярных маркеров.

При генотипировании микросателлитных локусов у коллекционных сортов черной смородины из Северной Европы в ряде случаев не удавалось подтвердить генетическую идентичность одноименных образцов из разных коллекций, например, сорт Оджебин оказался не идентичным остальным. В работе S. Reim с соавторами (2007) 11 микросателлитных локусов были использованы для уточнения происхождения у сортов, выведенных в Dresden-Pillnitz.

Проведение генетической паспортизации сортов крайне важно для селекции. Она необходима как для хранения, сертификации, идентификации и регистрации генетических ресурсов растений, так и для предоставления селекционерам прав интеллектуальной собственности. Сами идеи ДНК-идентификации появлялись в научном сообществе ещё в начале 2000-х годов (Sukhareva, Kuluev, 2018).

Методы генетической паспортизации применяют и в семеноводстве при проверке семян на соответствие определённому сорту, поскольку в этой сфере регулярно случаются ошибки. Проведение генетической паспортизации позволяет свести количество подобных возникающих ошибок

до нуля. По мнению академика А.А. Жученко, (2004), каждый образец селекционной коллекции должен быть идентифицирован и паспортизирован в целях сохранения целостности генетических ресурсов, что послужит основой для расширения генетической базы для селекции культурных растений. Крупнейшим мировым лидером в области ДНК-идентификации живых организмов является Институт биоразнообразия в Онтарио (Канада). Созданная глобальная база данных ДНК-штрихкодов живых организмов постоянно пополняется (Воронова и др., 2014).

Для целей ДНК-идентификации и паспортизации генотипов оптимальным будет использование набора маркеров, необходимого для получения уникальной молекулярно-генетической формулы сорта. Для получения наиболее достоверной дендрограммы генетического сходства образцов количество используемых маркеров, напротив, необходимо увеличивать. При этом важно не только количество маркеров, но и то, сколько аллелей они выявляют (Павловская и др., 2007; Боронникова и др., 2009).

В 2013 г. L. Palmieri с соавт. (2013) при исследовании 91 образца рода *Ribes* (включая *R. nigrum*, *R. rubrum*, *R. niveum*, *Ribes* × *nidigrolaria*) с использованием 10 SSR маркеров смогли выявить 87 уникальных генотипов. Данная работа показала, что даже небольшое количество SSR маркеров может эффективно применяться для изучения генетического разнообразия смородины.

Имеются публикации об исследовании отдельных сортов зарубежной селекции, однако генетическое разнообразие культуры красной смородины изучается сравнительно мало. Так, анализом варибельности микросателлитных локусов у представителей рода смородины *Ribes* занимаются ученые из Беларуси (Межнина, 2017). Среди 86 представителей рода *Ribes* с использованием 8 SSR маркеров выявлено 97 полиморфных аллелей. Основным источником редких аллелей являлись сорта смородины

красной и крыжовника. Полученные ими результаты показывают, что исследованные сорта смородины черной, смородины красной и крыжовника обыкновенного характеризуются достаточно высоким разнообразием аллелей локусов микросателлитных последовательностей.

Учеными ВНИИСПК впервые в России проведено генотипирование микросателлитных локусов смородины черной (*Ribes nigrum*). Показана возможность проверки родства образцов на основе анализа распределения микросателлитных аллелей. Был установлен высокий полиморфизм микросателлитных локусов, были выявлены редкие и уникальные аллели, что в дальнейшем позволило получить для каждого исследуемого образца уникальный мультилокусный профиль (Пикунова и др., 2015).

1.4. Генетические карты групп сцепления, локализация хозяйственно-полезных признаков в геноме

Все гены, входящие в состав одной хромосомы, передаются по наследству совместно, если не произошла рекомбинация в процессе образования половых гамет, и составляют группу сцепления. Поскольку в гомологичных хромосомах находятся одинаковые гены, группу сцепления составляют две гомологичные хромосомы (Schnable et al., 1998; Зеленцов, 2002).

Число групп сцепления соответствует числу хромосом в гаплоидном наборе. У красной смородины 16 хромосом в диплоидном наборе, соответственно – 8 групп сцепления. Однако при анализе наследования сцепленных генов было обнаружено, что в определенном проценте случаев сцепление может нарушаться. Таким образом, сцепление генов может быть полным и неполным. Причина нарушения сцепления – кроссинговер (перекрест хромосом в профазе I мейотического деления) (Mather, 1938). Генетическое картирование основано на том принципе, что гены (маркеры или локусы) разделяются посредством рекомбинации хромосом во время мейоза, что позволяет их в дальнейшем анализировать в потомстве (Paterson,

1996). На основании анализа частоты кроссинговера между генами можно вычислить расстояние между генами и, таким образом, определить их локализацию в хромосоме. План расположения генов в хромосоме называется картой хромосомы (Чесноков, 2018).

Карты генетического сцепления показывают порядок расположения генов на хромосоме и относительные расстояния между ними. Впервые такую карту составили в начале XX в. в лаборатории Колумбийского университета, возглавляемой Т. Морганом. Сегодня гораздо более сложные карты сцепления генов строятся на определении наследования специфических последовательностей ДНК (Baenziger et al, 2006).

На сегодняшний день исследование сцепления генов – важнейший подход, используемый как для картирования генома, так и в генетико-селекционной деятельности, в частности в селекции красной смородины. Построение генетической карты является важным инструментом для дальнейших геномных исследований (Потокина, Чесноков, 2013; Baird et al., 2008; Duran et al., 2009; Vegna et al., 2021).

Высоконасыщенные генетические карты являются важной предпосылкой для многих биологических применений, таких как идентификация ассоциаций маркер-признак, картирование количественных локусов признаков (QTL), идентификация генов-кандидатов, разработка молекулярных маркеров для селекции с использованием маркеров (MAS) и сравнительных генетических исследований. SNP в настоящее время являются лучшими маркерами MAS из-за их высокой распространенности и полиморфизма в геноме, а также их потенциала для прочного сцепления с интересующими признаками (Semagn et al., 2006; Barker, Edwards, 2009; Snowdon, Friedt, 2004; O'Brien, 1990).

Различают генетические и физические карты.

Генетическая карта сцепления (linkage map, genetic map) – одномерная схема взаиморасположения локусов генов (генетических маркеров) в группах

сцепления данного организма с указанием расстояний между ними в сантиморганах (сМ), установленных по частоте кроссинговера. Эта условная единица зависит от ряда факторов, в том числе от числа индивидов картируемой популяции: чем больше популяция, тем точнее генетическая карта. ГК дают представление, на каком относительном расстоянии участки хромосомы (локусы) или ДНК-маркеры находятся друг от друга, в какой последовательности расположены. Реальными единицами измерения оперируют физические карты, на которых расстояние между локусами измеряется в парах нуклеотидов. Однако составление физических карт требует предварительного частичного или полного секвенирования генома (Stam et al, 1993; Авдеев и др., 2010). Генетические карты сцепления являются наименее точными, и их можно рассматривать только в качестве первого приближения к реальным физическим картам. Тем не менее, на практике именно они позволяют локализовать сложные генетические маркеры на первых этапах исследования и дают возможность их дальнейшего изучения (Хлесткина, 2015; Браун, 2011).

Методы генетического картирования совершенствовались, но основной принцип оставался неизменным – гены картировались на основании анализа распределения между родственниками (Кочерина, Чесноков, 2016).

Например, карта сцепления на основе высокополиморфных динуклеотидных маркеров, полученная во многом усилиями Genethon, в настоящее время состоит из 2066 маркеров, расположенных в среднем на расстоянии 2,9 сМ друг от друга (Guaraya et al., 1999).

Такая информация недостаточна для решения тех задач, которые стоят перед молекулярной генетикой в настоящее время. Для изучения молекулярных основ наследственности чрезвычайно важно знать абсолютные расстояния между генетическими элементами. Таким образом, встает задача построения физической карты генома или его участков, то есть

такой карты, которая давала бы абсолютные расстояния между генетическими маркерами (Landjeva et al., 2007).

В настоящее время в пределах представителей рода смородина генетическое картирование применялось только лишь к черной смородине. Первая генетическая карта для черной смородины была создана Шотландскими учеными с помощью SSR (43 маркера), AFLP (107 маркеров) и SNP (16 шт.) маркеров. В результате также было установлено местоположение в геноме гена *Sc* устойчивости к почковому клещу и ряда QTL хозяйственно-полезных признаков (QTL, Quantitative trait loci) (Brennan et al., 2008).

Изначальная генетическая карта для черной смородины постепенно насыщалась новыми маркерами, полученными в результате использования современных подходов с применением секвенирования нового поколения (New Generation Sequencing). В 2011 году J. R. Russell с соавторами опубликовали вторую версию генетической карты черной смородины, увеличив число гибридов изучаемой популяции до 311 штук и используя для картирования еще одну гибридную семью MP7 (95 гибридов, Ben Finlay × Hedda). В данной работе посредством секвенирования транскриптомов родителей гибридной популяции с использованием секвенатора 454 (Life Science) были обнаружены новые SNP (около 7 тыс. шт.) и SSR (около 3 тыс.шт.) маркеры. Однако только 384 SNP были проанализированы на популяциях (в итоге 189 картированы в популяции 9328 и 118 в популяции MP7). Всего 10 SSR маркеров протестировали на популяциях, 6 штук картировали, при этом AFLP-маркеры были исключены из анализа. Общая длина карты составила 605 сМ для изучаемой популяции и 355 сМ для популяции MP7 (Russell et al., 2011). Несколько позднее была опубликована третья версия генетической карты черной смородины. В ней метод генотипирования по сиквенсу (genotyping by sequencing) использовали для выявления новых SNP маркеров в семье 9328 (Russell et al., 2014).

Несмотря на значительные успехи генетики и селекции в области растениеводства, связанные с применением молекулярных маркеров, узкий генетический базис современных сортов сельскохозяйственных растений остается серьезной преградой для их улучшения и поддержания высокой продуктивности. Причиной является высокая чувствительность генетически однородных организмов к абиотическим и биотическим факторам, а также возрастание требований к качеству сельскохозяйственной продукции. Такие хозяйственно важные признаки, как продуктивность и качество, устойчивость к различным стрессам, а также некоторые формы устойчивости к заболеваниям, как правило, не только полигенны, но и многофакторны и зачастую сильно зависят от взаимодействия генотип – среда (Чесноков, Артемьева, 2011; Родюкова, 2005). У сельскохозяйственных растений множество хозяйственно-полезных признаков наследуются по сложному полигенному типу и находятся под контролем многих генов, расположенных в QTL-локусах (Пшеничникова и др., 2008).

С появлением молекулярных маркеров на основе ДНК в начале 1980-х годов и сложных статистических инструментов в конце 1980-х и позже стало возможным идентифицировать области генома, которые контролируют количественные признаки. Два метода, использованные для этой цели, включают картирование интервалов локусов количественных признаков (QTL) и картирование ассоциаций в масштабах всего генома (GWAS) (Gupta et al., 2019).

Существует два методологических подхода, позволяющих выявить те блоки маркерных аллелей, которые сегрегируют вместе с определенным признаком: анализ сцепления (genetic linkage) и анализ ассоциаций (или неравновесие по сцеплению linkage disequilibrium). Неравновесие по сцеплению между двумя аллелями разных локусов выражается в том, что частота их совместной встречи в популяции отличается от ожидаемой при случайной независимой встрече (Almasy, Blangero, 2000). Одной из

основных, но не единственной, причиной существования неравновесия по сцеплению в популяции является тесное сцепление. Например, если в момент возникновения мутации, рядом находился определенный маркерный аллель, то в течение многих поколений этот аллель будет передаваться вместе с мутацией (Abecasis et al, 2005). Рекомбинация постепенно разрушает ассоциацию и происходит это тем быстрее, чем дальше друг от друга расположены локусы. Для тесно сцепленных (1-2 сМ) локусов неравновесие по сцеплению сохраняется десятки поколений (Ott, 1999; Flint-Garcia et al., 2003).

Идеальными маркерами для анализа неравновесия по сцеплению являются SNP-маркеры, характеризующиеся полиморфизмом единичных нуклеотидов. Анализ ассоциаций обладает рядом преимуществ, а именно, он может осуществляться на популяционных данных, и он обладает высокой разрешающей способностью.

Локусы количественных признаков (Quantitative Trait Loci, QTL) – это районы или местоположения гена/генов, влияющих на признак, измеряемый по линейной количественной шкале. QTL идентифицируют статистическими методами путём одновременного анализа генотипических и фенотипических данных. Основываясь на позиции маркера на карте сцепления, можно локализовать локус количественного признака на определенном участке хромосомы, согласно уровню статистической вероятности (Eathington et al., 1997).

Идентификация локусов количественных признаков (QTL) с последующим картированием QTL и клонированием генов-кандидатов/QTL имеет центральное значение для анализа признаков. Достижения в области геномных технологий произвели революцию в нашем понимании генетики сложных признаков, а геномные области, связанные с признаками, были использованы в селекция или клонирование QTL/генов с помощью маркеров.

Прием генетического картирования использовали для локализации гена Р устойчивости к почковому клещу ученые из Литвы. На карте помимо гена устойчивости были локализованы 43 AFLP и 19 микросателлитных маркеров (Mazeikiene, 2017).

Основная идея картирования QTL была известна более 40 лет назад со времени публикации работы Thoday (1961). Принцип состоял в том, что если генетические маркеры рассредоточены по всему геному изучаемого организма, то сегрегация (разделение, расщепление, распределение в потомстве) этих маркеров может быть использована для оценки эффектов, связанных с QTL. Картирование QTL стало реальным в последние 10 лет прошлого века, преимущественно благодаря развитию и применению техники молекулярного маркирования, так как выявление сцепления локусов количественных признаков и молекулярных маркеров обеспечило новый и достоверный метод идентификации QTL. Молекулярные маркеры сегрегируют как отдельные единицы и не подвержены влиянию внешних условий (Seaton, 2002).

За последнее время был предложен ряд методов картирования и исследования QTL (Haley and Knott, 1992; Jansen and Stam, 1994; Zeng, 1994). Относительно растений существует большая потребность в оценке QTL, контролирующей большинство важных агрономических признаков. Развитие методов выявления молекулярно-генетических маркеров и использование их в QTL-анализе стали одним из главных подходов в изучении наследования сложных признаков (Paterson et al., 1995).

Картирование QTL требует наличия генетической карты объекта, достаточно плотно заполненной молекулярными и другими маркерами. Таким образом, картирование и анализ QTL служат важными моментами для получения новой информации о действии и взаимодействии отдельных генов, помогают улучшить оценки эффективности скрещивания (Mohammadi et al., 2002) и, в конечном счете, являются основой для селекции при помощи

маркеров (MAS), при которой наиболее эффективным способом отслеживается перенос желательных генов от одной линии к другой (Devoto, 2012). Интервальное картирование (interval mapping) QTL является наиболее общим методом анализа локусов количественных признаков. Оно основано на методах максимального правдоподобия или многократного регресса (Broman et al., 2003).

Метод максимального правдоподобия (maximum likelihood) так же используется для QTL картирования (Lander and Botstein, 1989). Модели оцениваются посредством вычисления правдоподобия наблюдаемых распределений с учетом или без учёта QTL эффекта. Позиция QTL на карте определяется, как максимум правдоподобия из распределения значений правдоподобия, то есть подсчитывают десятичный логарифм (Logarithm of odds, LOD – это отношение величины вероятности, наблюдаемой при условии, что два гена сцеплены, к величине вероятности при отсутствии сцепления). Наиболее тесное сцепление между генами соответствует максимальному значению LOD (Arcade et al., 2004).

Неравновесное сцепление (linkage disequilibrium, LD). Впервые термин «неравновесное сцепление», как и сама концепция LD, были предложены Н. S Jennings в 1917 году. В отечественной литературе первое упоминание о неравновесном сцеплении и о возможности его использования в практической селекции растений, а также для установления эволюционных отношений у различных видов растительных форм приведено в 1985 году в монографии А. А. Жученко, А. Б. Короля (1985). На современном этапе LD – это существование корреляции между полиморфизмами, например, на уровне единичного нуклеотида (например, SNP) или других любых маркированных локусов, вследствие наличия у них общей истории мутаций и рекомбинаций. В целом для родственных или случайно эволюционно сопряженных популяций с независимо сегрегирующими локусами в отсутствии отбора, мутаций или миграции их полиморфных локусов будет

характерно генетического состояние равновесного сцепления. В противоположность этому взаимосвязь, отбор и примесь увеличивают уровень LD (Charman, 2001).

Точность QTL-картирования в значительной степени зависит от генетической изменчивости, охватываемой картирующей популяцией, размера популяции и числа задействованных маркерных локусов. Из-за ограниченного числа рекомбинационных событий в картирующей популяции анализ сцепления у растений позволяет определять положение QTL лишь в очень узком интервале – как правило, от 10 до 20 сМ. Указанные ограничения можно преодолеть при использовании ассоциативного картирования. Ассоциативное картирование известно, как картирование по неравновесию или LD картирование, оно возникло как инструмент для установления изменчивости сложных признаков. В качестве новой современной альтернативы традиционному анализу сцепления ассоциативное картирование обладает тремя основными преимуществами: увеличивается разрешение картирования, сокращается времени исследования и появляется возможность одновременно изучать большое число аллелей (Terwilliger, 2009).

Таким образом, можно предложить обобщенный подход по популяционному ассоциативному картированию растений (при условии, что образцы предварительно оценены и структурированы по ботаническим, молекулярно-генетическим и другим важным признакам). Широкогеномное ассоциативное картирование предполагает в качестве обязательного условия наличие высокочастотных ДНК-секвенаторов или высокоплотных олиго-ДНК-чипов для эффективной идентификации SNP с такой разрешающей плотностью, которая аккуратно и точно отражает широкогеномную LD-структуру и разнообразие гаплотипов (Чесноков, Артемьева, 2011).

Методы картирования QTL были успешно использованы на таких объектах, как томаты, кукуруза, арабидопсис, горох, несмотря на разную степень изученности их геномов и типы молекулярных маркеров, составляющих генетические карты данных объектов. Все это говорит в пользу того, что эти методы являлись фундаментальным нововведением в генетический анализ (Чесноков, 2013).

Имеется ряд работ зарубежных научных групп по исследованию хозяйственно-полезных признаков черной смородины (*Ribes nigrum*). В работе Brennan с соавторами (2008) была проанализирована популяция от целенаправленного скрещивания (125 гибридов) по таким показателям как: качество сока (проведена биохимическая оценка), размер ягод, время распускания почек, листьев, время первого цветения, а также устойчивость к почковому клещу. Исследования проводились в течение 3-х лет с выявлением среднего показателя по годам. Влияние генотипа на каждый фенотипический признак оценивалось для потомства с помощью дисперсионного анализа, при этом годы рассматривались как блоки. В результате работ было картировано 43 SNP маркера и 16 SNP маркеров. Группой зарубежных ученых данная работа была продолжена. Ими была предложена смешанная модель мультисредового подхода для этой популяции: 3 года рассматриваются как три отдельные блока, исследовались различные остаточные условия для моделирования корреляции между годами. Это позволило проводить тесты на взаимодействие между QTL, годом и типом потомства. Подход использовался для повторного анализа двух важных признаков – содержания антоцианов и распускания почек. Было идентифицировано несколько дополнительных QTL (Hackett, 2010). Значительное воздействие окружающей среды было отмечено в содержании различных компонентов качества фруктов, включая витамин С (Brennan and Graham, 2009) и антоцианы (Jenkins, 2008).

Позже Russel и другие опубликовали карту высокой плотности данной популяции, объединяющую маркеры SSR (Russel et al., 2011, 2014), и SNP, полученные методом генотипирования путем секвенирования (GBS). Далее работы с этой популяцией черной смородины были продолжены (Abreu, 2020). Данной группой ученых во всех восьми группах сцепления были обнаружены QTL, которые влияют на уровни метаболитов в черной смородине, с хорошей стабильностью в течение двух лет. Однако, как отмечают авторы, требуется дальнейшая работа по изучению генов, которые могут контролировать уровни этих компонентов. Полногеномный поиск ассоциаций (genome-wide association studies, GWAS) – один из современных методов поиска ассоциаций между геномными вариантами и фенотипическими признаками (Nordborg et al., 2008; Li et al., 2014). GWAS применяется в исследованиях многих сортов сельскохозяйственных культур (Newell et al., 2011; Zhang et al., 2015; Zegeye et al., 2014 и другие).

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследований

Биоресурсная коллекция красной смородины Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур (<https://vniispk.ru/pages/unu>) включает более 80 сортов красной смородины отечественной и зарубежной селекции (Голяева, Панфилова 2020). Создано и передано на государственное испытание 21 сорт красной смородины, из которых 13 сортов внесены в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию (<https://reestr.gossortrf.ru/>).

Материалом для исследования послужили 74 сорта красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК, отборный сеянец красной смородины 1426-2180 и *R. multiflorum.*, в том числе:

1. Восемнадцать сортов селекции ВНИИСПК – Ася, Баяна, Белка, Валентиновка, Вика, Газель, Дана, Дар Орла, Мармеладница, Нива,

Огонек, Орловская звезда, Орловчанка, Осиповская, Подарок лета, Роза, Селяночка, Устина.

2. Двадцать семь сортов отечественной селекции других НИУ – Алтайская рубиновая, Альфа, Белая Потапенко, Белая фея, Константиновская, Коралл, Красная Андрейченко, Кремовая, Мечта, Надежда, Новая красная, Натали, Памятная, Память Губенко, Ранняя сладкая, Рачновская, Рубин, Сахарная, Скороспелая, Тамбовская ранняя, Татьянина, Уральская красная, Уральские зори, Уральский сувенир, Щедрая, Челябинская красная, Циральт.
3. Двадцать девять сортов зарубежной селекции – Батищевская, Boulogne Blanche, Cascad, Gondouin, Heros, Jonkheer van Tets., Losan, Margaritar, North Star, Blanka, Red Cross, Rondon, Rote Hollandische, Rote Spatlese, Rovada, Rolan, Transparent Blanche, Viksne, Warners Grape, Weise Hollandische, White cherry, White grape, Белая крупная, Дарница, Ненаглядная, Пурпурная, Светлица, Святомихайловская, Чародейка (список сортообразцов представлен в Приложении 1).

Помимо сортов была изучена расщепляющаяся гибридная популяция красной смородины F_1 от скрещивания: Белая Потапенко (Red Cross × Красная сибирячка) и гибридной формы 1426-21-80 (82-4-11 (Rote Spatlese × Чулковская) × 78-2-118 (Rote Spatlese × Maarses Prominent)). Всего 140 образцов, включая родителей.

В работе представлены сорта, созданные в разных странах мира (в основном в европейских, но есть и американские сорта), что подчеркивает географическое разнообразие изучаемой выборки (Рисунок 1).

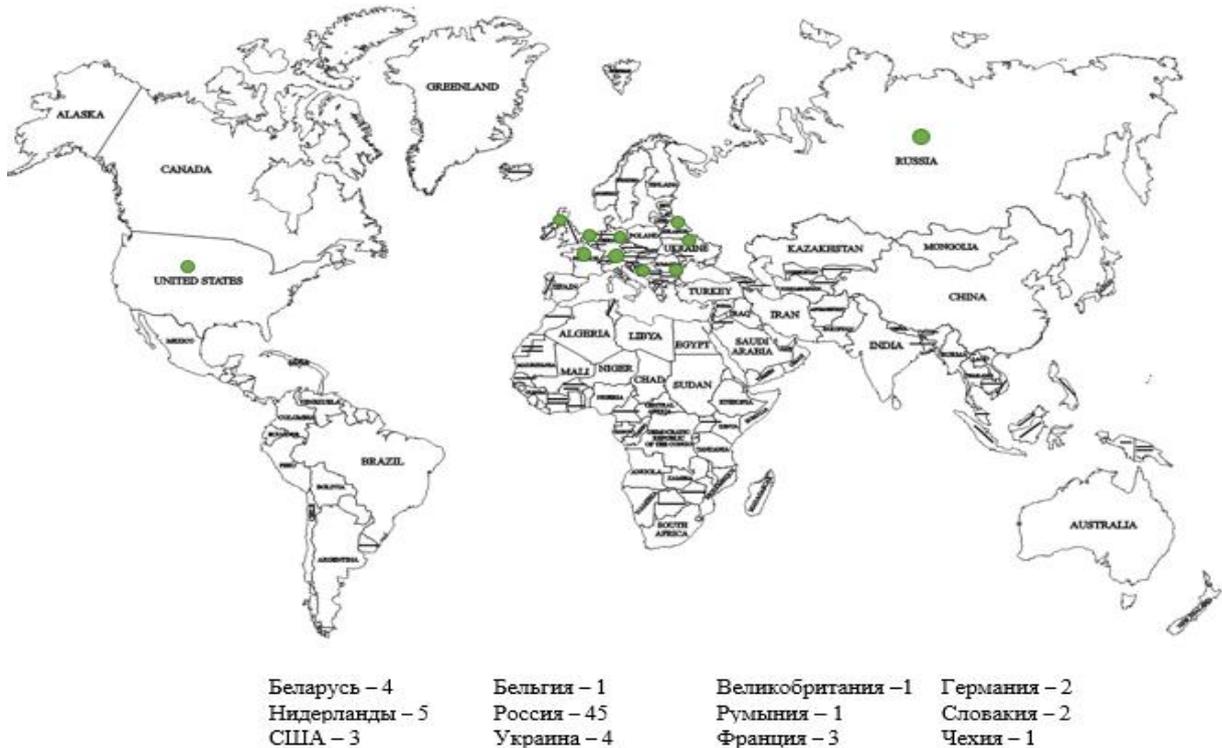


Рисунок 1 – Схематическое представление географического происхождения сортов красной смородины, задействованных в работе

2.2. Методы исследований

2.2.1. Отбор растительного материала

Отбор растительного материала в целях дальнейшего выделения ДНК – очень важный этап. Растительный материал был отобран в селекционных насаждениях ФГБНУ ВНИИСПК ранней весной из молодых только что раскрывшихся листьев, в которых ещё мало вторичных метаболитов. Так качество и концентрация полученной ДНК будут наилучшими.

Растительный материал отбирался при помощи пинцета в 1,5 мл пробирки Eppendorf.

После отбора часть свежего растительного материала была сразу использована для выделения ДНК. Остальной материал был высушен в термостате при +65 °С. Для этого пробирки с отобранными листьями были выставлены в подставки с открытыми крышками и помещены в термостат до

полного высыхания растительного материала. Высушенный материал можно хранить в темноте при комнатной температуре достаточно долго.

2.2.3. Выделение ДНК

ДНК выделяли из молодых листьев СТАВ методом по методике Doyle, Doyle с модификациями (1990) с добавлением меркаптоэтанола в лизирующий буфер. Методика выделения ДНК из смородины подробно описана в работе Пикуновой А.В. с соавторами (2020). Ткань листьев с добавлением подогретого рабочего раствора лизирующего буфера (Приложение 2) и специальных бусин измельчали в свежем виде в пробирках Eppendorf объемом 1,5 мл с помощью гомогенизатора Bertin Precellys Evolution. Далее проводили инкубацию полученной смеси на водяной бане 60 минут при t 65 °С, перемешивая 1 раз через 30 минут. Далее провели очистку смесью хлороформ-изоамилалкоголя (24:1), добавляя по 750 мкл к каждому образцу. При необходимости очистку проводили дважды. Далее полученную смесь перемешивали на ротаторе Multi Bio RS -24 Biosan в течение 15 минут.

Получившуюся смесь в пробирках помещали в центрифугу Minispin Eppendorf и центрифугировали на скорости 10000 об/мин в течение 10 минут. В результате в пробирках происходило разделение фаз.

Верхнюю фазу, в которой содержится ДНК и примеси, отбирали в новую 1,5 мл пробирку Eppendorf. К полученной смеси добавляли предварительно охлажденный изопропиловый спирт объемом 500 мкл на каждый образец. Полученную смесь тщательно перемешивали.

Затем повторяли этап проведения центрифугирования полученной смеси при 10000 об/мин в течение 10 минут. ДНК после центрифугирования выпадает в осадок. Полученный осадок промывали раствором 70% этанола. При необходимости очистку повторяли дважды.

Спирт удаляли путем сливания в емкость, краткого откручивания, отбора микропипеткой (не касаясь осадка). Затем просушивали пробирки с полученным осадком в твердотельном термостате Biokom Термо 48.

Полученный осадок разводили в буфере TE (1M Tris HCl, 0,5M EDTA). После растворения осадка полученный раствор ДНК встряхивали и центрифугировали.

Качество выделенной ДНК для генотипирования имеет решающее значение для получения достоверных последующих результатов и возможности их сравнительного анализа. Как отмечает Омашева с соавторами (2017) низкое качество и малое количество ДНК могут обусловить амплификацию в гетерозиготах предпочтительно только одной более короткой аллели, что проявляется как «выпадение» (dropout) аллели.

В итоге выделения получается концентрированная ДНК. Её необходимо проверить на чистоту и концентрацию. В данных исследованиях проверка качества проводилась методом разгонки ДНК в 0,8% агарозном геле вместе с контрольной ДНК с уже известной концентрацией (ДНК фага лямбда). Сравнивая интенсивность свечения с контрольным образцом, приблизительно оценивали концентрацию выделенной ДНК и устанавливали необходимую кратность разведения в 10 раз для дальнейшего проведения полимеразно-цепной реакции (ПЦР).

При этом, следует отметить, что химический состав листьев обусловленный особенностями вида и сорта может повлиять на результаты выделения. При работе с некоторыми сортами красной смородины понадобилось дважды произвести осаждение ДНК из раствора изопропанолом для достижения достаточного качества ДНК.

2.2.4. SSR маркеры

На первоначальном этапе осуществили подбор микросателлитных локусов для дальнейших исследований. Всего протестировано на небольшой выборке образцов около 70 пар праймеров микросателлитных локусов. Из них около половины были ранее опубликованы и использовались для изучения представителей рода смородина зарубежными исследовательскими группами (Brennan et al., 2002; Russell et al., 2014 и др.), а сиквенсы

остальных пар праймеров были разработаны на базе сиквенсов смородины размещенных в базе данных NCBI и предоставлены Nahla Bassil (не опубликованные данные). Амплификация праймеров серии RJL (Brennan et al., 2002) оказалась не успешной.

Основной прием оптимизации условий ПЦР, использованный в данной работе – это повышение или снижение температуры отжига праймеров. Остальные параметры – концентрация хлорида магния, концентрация праймеров, концентрация ДНК, число циклов амплификации сохранялись достаточно жесткими, во избежание неспецифической амплификации. При наличии неспецифических профилей амплификации (в широком диапазоне размеров), температура отжига повышалась, если после повышения все фрагменты равномерно блекли, но оставались, то профиль в целом считали неспецифическим для микросателлитных локусов.

Таким образом, из протестированных были подобраны 14 микросателлитных локусов для анализирования сортов красной смородины (Таблица 1) и 16 микросателлитных локусов для анализа расщепляющейся популяции (Таблица 2).

Таблица 1– Микросателлитные локусы для генотипирования сортов

№ п/п	Локус	ГС	Прямой праймер	Обратный праймер	Повторяющиеся мотивы (Repeat motif)	Разработчики SSR-пар праймеров
1.	g1-K04	1	TGT TCC CTG TTT CCT TCA AAA	GGA CGT GGA CGA TGA GAG TT	(TC) ₁₂ (TTCA) ₃ (TC) ₆	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
2.	g1-M07	1	TCC CGT TAC TGG AGT GGT GT	CCA TGG TTT TCC GAT TTG TT	(CT) ₁₇	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
3.	e1-O01	6	CCT TTC CAG AGA AAA CTC AAA CA	AAG TAT GGG AAC AAC GGC AG	(CT) ₁₁ (ATG) ₅	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
4.	g2-H21	4	TGC CCT TTT TGG TCA TTT TC	CAA TCG TCG ATG AAG GTC TG	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
5.	g2-G12	7	GTG ACC CAC CTA AAC CGT CC	GGA GTG GAG GGT TGG AAA AT	TC) ₁₅	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
6.	g2-L17	4	TTT GGA AAA CCT CCC CTT TT	GAG CTG TTG CTG TTG CCA TA	(CT) ₂₂	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
7.	e1-O21	4	TCT CTC CAA CTG AGA AGG AAA A	GAT TTG TTC TTG TGC AGC GA	(AAG) ₆ (TA) ₆	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)

продолжение таблицы 1

8.	g1-L12	5	CGA AGG TTG AAT CGG TGA GT	TTG TGA GCC GTA ACC ACG TA	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
9.	g2-J08	2	CGC CGA GCT CTA ATC ACT GT	ATA GCC CAT GCC CAT ATT CA	(GA) ₉	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
10.	Cra-489	3	TCT ATT ATC ACA CCC TCA ACA A	GTT TAT ACG ACA CAT CAA CTT TCC A	(TTTTC) ₄	Nahla Bassil, USDA and Department of Horticulture
11.	Cra-531	6	AGA AGT GAA AGT GGA AGA ACC	GTT TGT TTG AAG GAA GAC AGA GA	(AGC) ₄	Nahla Bassil, USDA and Department of Horticulture
12.	e3-B02	5	AAG ACG AAG ACG ACG ACG AT	CTG ATC TTT GCC GAA TGG TT	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
13.	g1-A01	5	CGA AGG TTG AAT CGG TGA GT	CGT AGC CAC GTA GTT CCA CA	(AG) ₁₂	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
14.	gr2-J05	1	CAA AAC TGA TTA GGG GAT CA	TTT GAA GAA GAG ATG GCG AAA	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)

*нет данных в открытом доступе

Таблица 2– Микросателлитные локусы для анализа расщепляющейся популяции

№ п/п	Локус	ГС	Прямой праймер (5'-3')	Обратный праймер (5'-3')	Повторяющиеся мотивы (Repeat motif)	Разработки SSR-пар праймеров (ссылка на источник)
1.	gr2-J05	1	CAA AAC TGA TTA GGG GAT CA	TTT GAA GAA GAG ATG GCG AAA	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
2.	g1-M07	1	TCC CGT TAC TGG AGT GGT GT	CCA TGG TTT TCC GAT TTG TT	(CT) ₁₇	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
3.	g1-K04	1	TGT TCC CTG TTT CCT TCA AAA	GGA CGT GGA CGA TGA GAG TT	(TC) ₁₂ (TTCA) ₃ (TC) ₆	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
4.	g2-J08	2	CGC CGA GCT CTA ATC ACT GT	ATA GCC CAT GCC CAT ATT CA	(GA) ₉	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
5.	g2-B20	3	CTC CAT CAA ATC CCT CGT TT	TCT TGC TTC CCA AAC AGT ATC A	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
6.	Cra-489	3	TCT ATT ATC ACA CCC TCA ACA A	GTT TAT ACG ACA CAT CAA CTT TCC A	(TTTTTC) ₄	Nahla Bassil, USDA and Department of Horticulture

продолжение таблицы 2

7.	e1-O21	4	TCT CTC CAA CTG AGA AGG AAA A	GAT TTG TTC TTG TGC AGC GA	(AAG) ₆ (TA) ₆	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
8.	e3-B02	5	AAG ACG AAG ACG ACG ACG AT	CTG ATC TTT GCC GAA TGG TT	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
9.	g1-A01	5	CGA AGG TTG AAT CGG TGA GT	CGT AGC CAC GTA GTT CCA CA	(AG) ₁₂	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
10.	g1-L12	5	CGA AGG TTG AAT CGG TGA GT	TTG TGA GCC GTA ACC ACG TA	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
11.	e1-O01	6	CCT TTC CAG AGA AAA CTC AAA CA	AAG TAT GGG AAC AAC GGC AG	(CT) ₁₁ (ATG) ₅	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
12.	Cra-531	6	AGA AGT GAA AGT GGA AGA ACC	GTT TGT TTG AAG GAA GAC AGA GA	(AGC) ₄	Nahla Bassil, USDA and Department of Horticulture
13.	g2-G12	7	GTG ACC CAC CTA AAC CGT CC	GGA GTG GAG GGT TGG AAA AT	(TC) ₁₅	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
14.	g2-J11	2, 7.2?	AAC AGG TAT GAC CAT GAG AAC CAA ACC GAT CGA AGA A	GTT TGC CGA CAC TAT GGT AAG GGA	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)

15.	e1-O20	-	CAT TGC TTG AAG TTG AAC ACA	CGA CAG GTT CTT GCC TTA GC	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)
16.	g1-PO1	-	TCC CTT CTA TCT CAC CAT CTC TC	CAA ATC TGC GTC GAT GTT GT	*	Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (<i>Ribes nigrum</i>). BMC Plant Biol 11, 147 (2011)

*нет данных в открытом доступе

В дальнейшей работе локусы были объединены в мультиплексы для одновременного анализа.

2.2.5. ПЦР-анализ и разделение ПЦР-продуктов, электрофорез

ПЦР-анализ проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, содержащей:

- 1х ПЦР буферный раствор,
- 200 мкМ нуклеотидов,
- 2 мкМ прямого праймера,
- 2 мкМ обратного праймера,
- 0,3 ед. Taq ДНК-полимеразы,
- 10 нг ДНК.

Реакция амплификации проводилась в следующем режиме: после предварительной денатурации при 95 °С в течение 5 мин. следуют 30 циклов: денатурация – 30 с при 95 °С; отжиг праймера – 30 с при температуре, подобранной для каждой пары праймеров, элонгация ДНК – 30 с при 72 °С; завершающая элонгация – 10 мин. при 72 °С. Температуры отжига праймеров установлены опытным путем (Таблица 3).

Анализ полученных ПЦР продуктов осуществлялся в несколько этапов. На первом этапе производилось разделение продуктов в 1,7% агарозном геле в буфере ТБЕ (Tris основной, H_3BO_3 (борная кислота), EDTA). Гели окрашивались бромистым этидием EtBr с последующей визуализацией в УФ-свете.

В случае отсутствия амплификации повторяли этап проведения ПЦР. Если дважды проделанная ПЦР не давала продуктов на конкретном генотипе, при этом на других генотипах проходила успешно, и этот генотип амплифицировал в других локусах, приходили к выводу, что у данного генотипа в данном локусе амплификация не происходит, данный локус отсутствует.

Агарозный гель не позволяет достаточно хорошо разделить аллели микросателлитных локусов, которые могут отличаться на 1 п.н. Максимальной разрешающей способностью для агарозного геля обладает плотный 4% гель, который способен разделить фрагменты с разницей в 6 п.н.

На этапе разделения продуктов амплификации электрофорезом в агарозном геле по интенсивности свечения ПЦР продуктов были сделаны выводы для дальнейшего выравнивания концентрации ПЦР продуктов разных локусов для объединения в мультиплексы. При равных условиях разные локусы амплифицировали больше или меньше ПЦР продуктов. При этом от количества продукта будет зависеть высота пиков после капиллярного электрофореза и интенсивность окраски фрагментов после ПААГ электрофореза, чем больше количество продукта, тем выше пики и тем интенсивнее окраска. Поэтому ПЦР продукты разных локусов, которые предстоит анализировать вместе должны быть приблизительно одинаковой концентрации. Если не выравнивать концентрацию, то на одном ПААГ геле могут оказаться слишком толстые, сливающиеся фрагменты и слишком бледные, которые трудно рассмотреть. Те же ПЦР продукты после капиллярного электрофореза будут выглядеть как слишком высокие пики и слишком низкие – на уровне «шумов».

Таким образом, агарозный гель был использован только для первичного анализа и выравнивания концентрации ПЦР продуктов.

После успешного тестирования на агарозе в качестве промежуточного этапа при работе с сортами был использован электрофорез в 8% полиакриламидном геле (ПААГ) с последующим окрашиванием нитратом серебра. При анализе гибридной семьи ПААГ зачастую использовали как завершающий этап визуализации полиморфизма микросателлитных локусов, если анализируемые фрагменты достаточно хорошо разделялись.

Окончательное разделение фрагментов для анализа полиморфизма сортов смородины красной проводили путем капиллярного электрофореза на

приборе ABI prism Genetic Analyzer 3010 на коммерческих условиях в фирме Синтол. Следует отметить, что данный тип анализа является наиболее точным методом разделения, который позволяет различить фрагменты с разницей 1 п.н. ПЦР продукты нескольких локусов, отличающиеся по размерам и флуоресцентной метке собирали в один мультиплекс для одновременно анализа, учитывая интенсивность свечения ПЦР продуктов на агарозном геле.

2.2.6. GBS-анализ

Для выявления SNP маркеров был использован подход секвенирования ДНК-библиотек с уменьшенной сложностью генома GBS (Genotyping by sequencing), предложенный Elshire с соавторами (2011). Данный метод является одним из наиболее дешевых и наименее трудоемких и при этом хорошо зарекомендовал себя при анализе геномов растений (He et al., 2014). Для анализа было использовано 200 нг суммарной ДНК для каждого из образцов. Качество выделенной ДНК и концентрация оценивались с помощью электрофореза в 1,7% агарозном геле и с помощью флуориметра Qubit 3.0 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA). Рестрикция геномной ДНК проводилась с использованием двух эндонуклеаз рестрикции PstI/MspI. Липкие концы, получаемые при рестрикции PstI, соответствовали липким концам адаптора 1, содержащего баркод. Липкие концы, получаемые при рестрикции второй рестриктазой соответствовали липким концам универсального адаптора 2 (Y-адаптор). Лигирование адапторов проводилось в той же пробирке, что и рестрикция сразу же после рестрикции геномной ДНК. После лигирования адаптеров образцы были мультиплексированы, и полученная смесь была очищена с использованием набора QIAquick PCR Purification Kit и использована в качестве матрицы для ПЦР. ПЦР проводилась в пятикратной повторности. Было использовано короткое время элонгации, что позволило обогатить библиотеку фрагментами длиной 160-500 п.н. При проведении ПЦР могли быть амплифицированы только те

фрагменты, которые содержат с одного конца сайт узнавания PstI и с другого – сайт узнавания одной из частощепящих рестриктаз (MspI/HpaII/MseI) с прилигированными соответствующими адаптерами. Продукты амплификации были смешаны в равных соотношениях и очищены с помощью AMPureXP (Beckman Coulter). Готовая к секвенированию библиотека первоначально была проверена на Agilent Bioanalyzer и при помощи qPCR, после чего отсеквенирована на 1 дорожке Illumina HiSeq 4000 (101 цикл с одной стороны фрагментов) с использованием реактивов HiSeq 4000 sequencing Kit version 1.

Отсеквенированные прочтения («риды») были использованы для дальнейшей обработки в программе Tassel. Биоинформатическая обработка сиквенсов, SNP-calling осуществлялись Д.В. Горюновым (НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ) в рамках заказного НИР по гранту РНФ. Общая статистика генотипирования файлов VCF досчитывалась с помощью инструмента vcfstats.

2.2.7. Статистическая обработка полученных данных

После разделения ПЦР продуктов микросателлитных локусов капиллярным электрофорезом на приборе ABI prism Genetic Analyzer получили данные в формате fsa. Визуализация полученных данных проводилась в бесплатной программе PeakScannerSoftware_v01 (PeakScanner™ Software Version 1.0. PartNumber 4382253 Rev. A 12/2006).

Несмотря на то, что фрагментный анализ с применением капиллярного электрофореза и последующей программной обработкой результатов является наиболее точным, к анализу данных требуется аналитический подход. Программа PeakScannerSoftware_v01 предоставляет размеры аллелей с точностью до сотых и порой могут возникнуть некоторые сомнения к какому размеру отнести аллели. Сама автоматическая расстановка размеров так же может быть ошибочной в связи с особенностями форм пиков. Поэтому анализ аллелей очень близких по размеру требует дополнительной проверки.

Различия между аллелями у близкородственных сортов до двух пар нуклеотидов вполне могут оказаться результатом ошибки при учёте данных. Обнаружение таких различий – повод для дополнительного просмотра первичных данных. Нельзя учитывать данные, в которых слишком низкие или слишком высокие (over loaded) пики. При наличии слишком низких пиков в целом, можно предполагать, что некоторые аллели не вошли в зону видимости, остались на уровне шумов. При слишком высоких пиках затруднительно присвоить им верный размер, так как форма в основании может быть достаточно широкой. Необходимо подобрать подходящую концентрацию ПЦР продукта и повторить разгонку.

Полученные размеры пиков экспортировали в программу Excel.

Дендрограмма на основании данных полиморфизма микросателлитных локусов построена методом кластерного анализа UPGMA с использованием коэффициента Жаккара, число репликаций – 1000. Расчет коэффициентов сходства Жаккара (Jaccard similarity coefficient) и построение дендрограммы осуществлялось с помощью программы PAST.

Для каждого микросателлитного маркера был рассчитан коэффициент информативности (PIC, Polymorphic Information Content) по формуле $PIC = 1 - \sum(P_j)^2$, где P_j это частота встречаемости j -той аллели, у всех проанализированных генотипов в выборке. Показатели полиморфизма локусов в выборке определяли с использованием программы GenAlEx 6.2 (Peakall, Smouse, 2006). Показатели гетерозиготности были рассчитаны и использованы программой GeneCap.

MDS-анализ генотипов был выполнен в программном обеспечении Tassel 5 (Bradbury et al., 2007) (версия 5.2.80) и визуализирован в ggplot2 (версия 3.3.5) и ggrepel (<https://github.com/slowkow/ggrepel> дата обращения 5 апреля 2022 года) R библиотеки.

Admixture-анализ GBS данных был проведен в пакете LEA R. Количество K-популяций оценивалось от 1 до 12 кластеров, при этом для

каждого значения К (кластера) выполнялось 100 повторений. Наилучшее значение было выбрано на основе критерия перекрестной энтропии.

Генетическая карта построена с применением программы Join Map 3. Для статистической обработки полученные данные ДНК-маркирования были закодированы для программы Join Map с учётом типа популяции и наблюдаемых типов расщепления. Тип нашей популяции СР (cross pollinated) – популяция, возникающая в результате скрещивания двух гетерогенно гетерозиготных и гомозиготных диплоидных родителей, фазы сцепления которых (возможно) неизвестны. Для последующей кодировки использованы следующие коды:

<abxcd> локус гетерозиготный у обоих родителей, у гибридов наблюдается 4 аллеля;

<efxed> локус гетерозиготный у обоих родителей, 3 аллеля;

<hkxhk> локус гетерозиготный у обоих родителей, 2 аллеля;

<lmx11> локус гетерозиготный у одного родителя;

<npxnp> локус гетерозиготный у другого родителя.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Полиморфизм микросателлитных локусов сортов

Микросателлитные маркеры – наиболее широко используемый тип маркеров для генотипирования растений за последние 20 лет, поскольку они обладают рядом преимуществ: являются высокоинформативными, кодоминантными, многоаллельными генетическими маркерами, которые передаются между родственными видами (Mason, 2015).

Анализируемая выборка составила 74 сортообразцов красной смородины отечественной и зарубежной селекции (Приложение 1).

На начальном этапе выполнения исследований нами проведена работа по подбору оптимальных наборов SSR маркеров. Подобраны 14 локусов для масштабного тестирования на всей изучаемой выборке сортов красной смородины. В целях оптимизации выполнения поставленных задач локусы были сгруппированы в несколько мультиплексов (Таблица 3). При их формировании, наряду с температурой отжига праймеров, учитывали различия в размерах амплифицируемых фрагментов. Мультиплексирование необходимо для наиболее эффективного одновременного анализа генофонда на ABI Prizm Genetic Analyzer. Стоит отметить, что зачастую в зарубежной литературе под мультиплексированием подразумевают одновременную амплификацию нескольких локусов с применением специального набора реактивов. В проделанной исследовательской работе, в большинстве случаев были сгруппированы вместе готовые ПЦР продукты в момент подготовки к разделению.

Таблица 3 – Мультиплексные наборы микросателлитных локусов

Локус	ГС	Флуоресцентная метка	t отжига, °C
Мультиплекс 1			
g1-K04	1	FAM	52
g1-M07	1	R6G	52
e1-O01	6	FAM	54
Мультиплекс 2			
g2-H21	4	FAM	50
g2-G12	7	R6G	54
g2-L17	4	FAM	50
e1-O21	4	R6G	50
Мультиплекс 3			
g1-L12	5	FAM	52
g2-J08	2	R6G	54
Мультиплекс 4			
Cra-489	3	FAM	50
Cra-531	6	R6G	52
e3-B02	5	FAM	52
Мультиплекс 5			
g1-A01	5	FAM	52
gr2-J05	1	FAM	52

В случае отсутствия амплификации, ПЦР повторялась, чтобы максимально исключить ошибки в пипетировании. Если дважды проделанная ПЦР не давала продуктов на конкретном генотипе, при этом на других генотипах проходила успешно, и этот генотип амплифицировал в других локусах, приходили к выводу, что у данного генотипа в данном локусе амплификация не происходит.

ДНК-маркеры проявили различный уровень полиморфизма от 3 до 16 аллелей. Основываясь на полученных микросателлитных профилях по 74 изучаемым сортам, проанализировано распределение аллелей и показатели полиморфизма по изучаемым микросателлитным локусам (Таблица 4).

Таблица 4 – Характеристика полиморфизма микросателлитных локусов, идентифицированных у 74 сортов красной смородины

Локус	Перечень аллелей	Число аллелей	Но	Не	PIC	Число уникальных аллелей	Число редких аллелей *	Среднее число аллелей на сорт
g1-K04	298, 299 , 306, 307, 308, 309 , 312, 313, <i>315, 317, 318, 319, 320, 321</i>	14	0,73	0,74	0,76	6	3	1,8
e1-O01	132, 134, <i>135</i> , 136, <i>137</i> , 138, 139, 144, 145, 149, 158	11	0,81	0,68	0,81	2	2	1,7
Cra-489	<i>233, 235, 236, 237, 238, 240, 241</i>	7	0,76	0,82	0,75	0	3	1,5
g1-L12	210, 212 , 213, 214, <i>216, 217</i> , 220, 222, <i>224, 226, 228, 233, 234</i>	13	0,82	0,86	0,82	3	2	1,8
g1-A01	204, 206 , 207, <i>210, 214</i> , 216, 218, 220, <i>222, 226, 228</i>	11	0,82	0,85	0,81	2	3	1,8
g2-L17	<i>125, 128, 135, 137, 144, 156, 159</i>	7	0,77	0,64	0,72	2	1	1,3
gr2-J05	<i>179, 185, 187</i>	3	0,47	0,41	0,51	1	0	1,3
g2-H21	<i>249, 251, 252, 253, 254, 256</i>	6	0,68	0,67	0,71	0	1	1,7
e3-B02	154 , 162, 165, <i>168, 170, 171</i>	6	0,58	0,62	0,62	1	1	1,6
g2-J08	141, 149, 151, 153, 161 , <i>165, 166, 167, 168, 169, 172, 176, 177, 179, 180, 185</i>	16	0,88	0,48	0,84	5	2	1,5
g1- M07	202, 206 , 211, <i>216, 219</i>	5	0,56	0,23	0,67	1	1	0,9
e1-O21	295, 302, 304 , 308, 309, 312, <i>317, 320</i>	8	0,73	0,78	0,76	2	1	0,1
g2-G12	<i>179, 181, 183, 185, 187, 189, 191</i>	7	0,74	0,85	0,74	0	2	0,1
Cra-531	<i>162, 165, 168, 171, 174, 177</i>	6	0,75	0,82	0,74	0	0	0,1

*частота которого в изученной выборке не превышает 5%; **полужирным** шрифтом указаны уникальные аллели; *курсивом* указаны редкие аллели

В ходе выполнения исследований проанализированные локусы показали стабильные и четкие пики, которые позволили точно определить размер аллелей. Наиболее информативными для идентификации и различения генотипов сортов красной смородины являются гетерозиготные локусы, а также локусы, в которых амплифицируются редкие и уникальные аллели. Уникальные аллели – это аллели, которые присутствуют только у одного сорта изучаемой выборки. Редкие аллели – это те, частота встречаемости которых не превышает 5% в пределах анализируемой выборки.

Ниже перечислены гетерозиготные локусы для конкретных генотипов красной смородины (Таблица 5). Их можно использовать в дальнейшем для изучения гибридного потомства конкретных сортов, в том числе для подтверждения гибридности.

Таблица 5 – Гетерозиготные локусы некоторых сортов красной смородины

№ п/п	Сорт	Локусы
1.	Белая Фея	e1-O01, g2-G12
2.	Алтайская рубиновая	g1-L12, g2-B20
3.	Альфа	g2-L17, g1-K04, e1-O21, g1-L12, g2-b20
4.	Ася	e1-O01, g1-L12
5.	Батищевская	e1-O01, g1-K04, g1-L12, g2-B20, g2-G12
6.	Баяна	g1-L12, g2-B20, g2-G12
7.	Белая крупная	e1-O01, e1-O21, g1-L12
8.	Белка	g2-L17, g2-B20, g2-J08
9.	Blanka	e1-O21, g1-L12, g2-B20
10.	Булонская белая (Boulogne Blanche)	g1-L12, g2-B20
11.	White cherry	g2-L17, g1-L12, g2-G12
12.	Валентиновка	e1-O21, g2-B20
13.	Viksne	e1-O01, g1-L12, g2-G12
14.	Виноград Варнера (Warner's Grape)	e1-O01, e1-O21
15.	Газель	g1-L12, g2-G12
16.	Голландская красная (Rote Hollandische)	g1-L12, g2-B20, g2-G12
17.	Gondouin	g1-L12, g2-G12
18.	Дана	e1-O21, g1-L12
19.	Дар Орла	e1-O01, g1-L12, g2-B20, g2-G12
20.	Дарница	g2-L17, g2-B20
21.	Звезда севера (North Star)	e1-O21, g1-L12, g2-G12

продолжение таблицы 5

22.	Jonkheer van Tets.	e1-O01, g1-L12
23.	Cascad	e1-O01, e1-O21, g1-L12, g2-J08, g2-G12
24.	Константиновская	g2-L17, g2-B20, g2-G12
25.	Коралл	g2-L17, g1-L12, g2-G12
26.	Красная Андрейченко	g2-L17, e1-O21, g1-L12
27.	Red Cross	g2-L17, e1-O01, e1-O21, g1-L12, g2-J08
28.	Losan	e1-O01, e1-O21, g2-J08
29.	Margaritar	e1-O01, g1-L12, g2-B20
30.	Мармеладница	g1L-12/3ал, g2-G12
31.	Мечта	g1-L12, g2-B20
32.	Надежда	e1-O01, g1-K04 e1-O21, g1-L12, g2-G12
33.	Натали	e1-O01
34.	Ненаглядная	e1-O01, g1-L12, g2-J08
35.	Нива	e1-O01, e1-O21, g1-L12, g2-J08, g2-G12
36.	Новая красная	g2-L17, e1-O01, g1-K04, g1-L12, g2-B20, g2-J08
37.	Огонек	e1-O01, g1-K04, e1-O21, g1-L12, g2-G12
38.	Орловская звезда	g2-L17, e1-O01, g1-K04, g1-L12, g2-J08
39.	Орловчанка	e1-O21, g2-J08
40.	Осиповская	e1-O01, g1-K04, g1-L12
41.	Памятная	g2-L17, e1021, g1L12, g2b20
42.	Память Губенко	g2-L17, e1-O21, g2-B20, g2-J08
43.	Подарок лета	e1-O01, g1-L12, g2-J08, g2-G12
44.	Прозрачная белая (Transparent Blanche)	g2-L17, e1-O01, g1-L12, g2-G12
45.	Пурпурная	g2-L17, e1-O21
46.	Ранняя сладкая	g1-L12, g2-J08, g2-G12
47.	Rovada	g1-K04, e1-O21, g2-B20
48.	Random	e1-O01, g1-L12, g2-B20
49.	Rote Spatlese	g2-H21, g2-G12
50.	Рачновская	g2-L17, g2-B20, g2-G12
51.	Рубин	g1-L12, g2-B20, g2-J08, g2-G12
52.	Сахарная	g1-L12, g2-J08, g2-G12
53.	Светлица	e1-O01, g1-L12, g2-J08
54.	Святомихайловская	e1-O01, g1-L12
55.	Селяночка	e1-O01, g1-L12, g2-J08, g2-G12
56.	Скороспелая	g2-L17, g2-B20
57.	Тармбовская ранняя	e1-O01, g1-L12
58.	Татьянина	e1-O01, g1-L12, g2-J08
59.	White grape	e1-O01
60.	Уральская красная	g2-L17, g1-L12
61.	Уральские зори	e1-O01, e1-O21, g1-L12, g2-J08
62.	Уральский сувенир	g2-L17, e1-O01, e1-O21, g1-L12
63.	Устина	e1-O01, g1-L12, g2-J08, g2-G12
64.	Циральт	g2-H21, e1-O01, g1-K04, g2-G12
65.	Чародейка	g2-L17, e1-O01, g1-L12
66.	Щедрая	g2-L17, e1-O01, e1-O21, g1-L12

Наибольшее количество неамплифицируемых образцов обнаружено в локусах g1-M07 (у 24 сортов), gr2-J05 (у 8 сортов) и в локусе g1-A01 (у 5 сортов).

В большинстве случаев у каждого генотипа в конкретном локусе выявлено не более двух фрагментов, но в некоторых случаях амплифицировалось три фрагмента (Орловчанка, Константиновская, Надежда – в локусе e3-B02; Мармеладница – в локусе g2-G12; Надежда – в локусе g2-J08; Светлица, Татьяна – в локусе g1-L12). В литературе есть сообщения об амплификации более чем двух аллелей в некоторых микросателлитных локусах у диплоидных форм, что связано с дупликацией микросателлитных локусов на одной и той же или на разных хромосомах (Galli, 2005).

Идентификация конкретного генотипа основывается на отличии данного генотипа от генотипов всей выборки, поэтому важно обнаружить уникальный профиль каждого конкретного генотипа. При этом уникальность генетического профиля, основанного на полиморфизме ограниченного количества микросателлитных локусов, действует в пределах проанализированной выборки. То есть мы можем утверждать, что среди проанализированных генотипов красной смородины, данный генотип имеет уникальный профиль. Однако, не исключено, что, если сравнить его с другим генотипом, особенно близкородственным, профили могут оказаться одинаковыми.

Практически для всех сортообразцов красной смородины изучаемой выборки получены уникальные микросателлитные профили, основанные на:

1. амплификации уникальных и редких;
2. амплификации уникального сочетания аллелей в одном локусе;
3. уникальном мультилокусном профиле.

Исключение составили две пары сортообразцов: Caskad и Red Cross, Рубин и Алтайская рубиновая. Профили сортообразцов Caskad и Red Cross

идентичны друг другу, хотя и отличаются от остальных. Сорта Red Cross (Вишневая × White Grape) и Cascad (свободное опыление сорта Диплом (Вишневая × White Grape) выведены в США и имеют общих предков. Сорт Алтайская рубиновая произошел от свободного опыления сорта Файя плодородная, а у сорта Рубин – происхождение неизвестно.

Можно предположить, что в коллекции под разными именами присутствует один и тот же генотип или, что данные пары сортов настолько схожи, что полиморфизма проанализированных локусов недостаточно для их различения.

Провести идентификацию по уникальному сочетанию аллелей в одном локусе удалось для 24 сортов. С уникальным сочетанием аллелей в локусе g2-J08 отличаются сорта: Вика (176/185 п.н.), Jonkeer van Tets. (161/185 п.н.), Коралл (141/165 п.н.), Надежда (168/179/185 п.н.), Орловская звезда (167/177 п.н.), White grape (166/185 п.н.) и Уральский сувенир (165/185 п.н.).

В локусе g1-A01 уникальное сочетание аллелей у сортов Blanka, Натали и Челябинская красная, с размерами аллелей 210/220 п.н., 220/222 п.н. и 206/218 п.н. соответственно, в локусе g2-G12 уникальное сочетание аллелей обнаружено у сорта Мармеладница (179/185/191 п.н.). В локусе Cra-531 выявлено уникальное сочетание аллелей у сортов Альфа (165/177 п.н.) и Белая крупная (162/165/177 п.н.). В локусе e1-021 у сортов Валентиновка (295/312 п.н.) и Дана (295/317 п.н.). В локусе e1-O01 уникальное сочетание аллелей обнаружено у сорта Белая Потапенко (132/136 п.н.). В локусе g1-M07 у сорта Дар Орла (206/219 п.н.). У сорта Константиновская уникальное сочетание аллелей обнаружено в локусе e3-B02 (165/168/171 п.н.). В локусе Cra-489 у сорта Нива (235/240 п.н.). В локусах: g2-H21 – Rondon (252/254 п.н.), g1-L12 – Светлица (228/233/234 п.н.), g1-L12 – Татьяна (212/213/226/228 п.н.), gr2-J05 – Щедрая (179/185 п.н.).

В пределах проанализированной выборки такие сочетания аллелей по конкретным локусам у других сортов не встречается. Это дает возможность

отличить данные сорта от других сортов выборки по данному сочетанию аллелей в конкретном локусе.

Выявлены сорта, для идентификации которых необходимо проанализировать одновременно от 2 до 4 локусов, так как они уникальны не сочетанием аллелей в конкретном локусе, но сочетанием нескольких локусов, что вкуче дает идентификационную формулу (указывает какие локусы следует анализировать для идентификации конкретного генотипа в пределах проанализированной выборки и какие в этих локусах амплифицируются аллели у данного генотипа).

Мультилокусные профили идентифицированы у 44 сортов среди всей проанализированной выборки. У сорта Коралл уникальное сочетание аллелей обнаружено в локусах g2-G12 (179/189 п.н.) и g2-J08 (141/165 п.н.). У сортов Мечта и Надежда уникальное сочетание аллелей обнаружено в локусе g2-J08 с размерами 179/185 п.н., 168/179/185 п.н. соответственно. У сорта Память Губенко уникальное сочетание аллелей наблюдается в локусах e1-O01 (132/138 п.н.) и Cra-489 (237/241 п.н.). У сорта Ранняя сладкая выявлена аллель размером 137 в локусе e1-O01. У сортов Рачновская и Сахарная уникальное сочетание аллелей выявлено в локусах e1-O01 и Cra-489.

Сорт Ася имеет уникальное сочетание аллелей в локусах e1-O21 и Cra-489, такие сочетания аллелей у других сортов не встречаются. Сорт Баяна имеет уникальное сочетание аллелей в локусах g2-J08 (149/168 п.н.) и g2-G12 (185 п.н.). Уникальное сочетание аллелей в двух локусах было обнаружено у сортов: White Cherry (e1-O01 134/138 п.н., Cra-489 237/241 п.н.), Weisse Hollandische (g1-K04 306 п.н., e1-O01 134/136 п.н.), Дарница (g1-K04 306/307 п.н., Cra-489 235/241 п.н.), North Star (g1-K04 306/307 п.н., g2-H21 251 п.н.), Losan (g1-M07 211 п.н., g2-J08 153/172 п.н.), Transparent Blanche (e1-O01 134 п.н., Cra-489 233/240 п.н.), Пурпурная (g2-L17 125/144 п.н.; e1-O21, 308/312 п.н.), Rovada (g1- K04 306/313 п.н., e1-O01 136/138 п.н.) и Чародейка (e1-O01 136/138 п.н., Cra-489 233/237 п.н.).

У сортов Батищевская, Boulogne Blanche, Vīksne, Warner's Grape, Heros, Rote Hollandische, Margaritar, Ненаглядная и Святомихайловская наблюдается уникальность только при одновременном анализе более двух локусов.

На этапе анализа полученных данных при установлении размеров аллелей как в пределах одной лаборатории, так и между разными лабораториями важно иметь возможность сопоставить полученные данные. В качестве шкалы для сопоставления в каждую серию анализов необходимо включать сорта контроля.

При разработке систем идентификации генотипов важное значение имеет воспроизводимость результатов анализа – возможность получать одинаковые результаты в разных лабораториях, на которую существенно влияет методика детекции.

Несмотря на хорошую воспроизводимость результатов микросателлитного анализа, небольшие изменения в методике проведения (такие как разные флуоресцентные метки, различные приборы-анализаторы, наборы реактивов и др.) могут привести к сдвигу размеров аллелей, например, в зависимости от цвета флуоресцентной метки ведущего праймера, полученные фрагменты могут оказаться больше или меньше на несколько пар нуклеотидов. Поэтому в последнее время в практику проведения анализа входит использование сортов контролей с известными генотипами.

Зная абсолютные («истинные») размеры контрольного образца, легко вычислить фактор конверсии (сдвига) для всех исследуемых генотипов. В связи с этим, единый контроль необходим в каждой серии генотипируемых образцов (Омашева и др., 2017).

Были подобраны сорта-контроли для идентификации генотипов, использование которых позволит сопоставлять данные, полученные с некоторыми вариациями методической части. В качестве контролей для идентификации сортов красной смородины предложены достаточно

востребованные в производстве сорта различного происхождения Газель (оригинатор ВНИИСПК, РФ, Чулковская × Maarses Prominent) и Валентиновка (оригинатор ВНИИСПК, РФ, Rote Spatlese × Jonkheer van Tets).

Различными группами учёных охарактеризованы отдельные генетические коллекции представителей рода *Ribes*, однако генетическое разнообразие культуры красной смородины изучается сравнительно мало. Так, анализом вариабельности микросателлитных локусов у представителей рода смородины *Ribes* занимаются ученые из Беларуси (Межнина, Урбанович, 2017). Данной группой учёных было изучено генетическое разнообразие 86 представителей коллекции рода *Ribes*, включающие сорта селекции Беларуси, России, Швеции, Литвы и других стран. В исследование было вовлечено 9 сортов смородины красной. Среди данной выборки с использованием 8 SSR маркеров выявлено 97 полиморфных аллелей. Основным источником редких аллелей являлись сорта красной смородины и крыжовника. Полученные ими результаты показывают, что исследованные сорта черной смородины, смородины красной и крыжовника обыкновенного характеризуются достаточно высоким разнообразием аллелей локусов микросателлитных последовательностей.

Зарубежными группами ученых SSR маркеры использовались для оценки разнообразия генетических коллекций *Ribes* в Италии и Северной Европе (Cavanna et al., 2009; Antonius et al., 2012; Palmieri et al., 2013), в том числе для проверки достоверности родословных и идентичности одноименных сортов в разных коллекциях. Проект RIBESCO, направленный на углубленное изучение и сохранение генофонда представителей рода *Ribes* Северной и Центральной Европы был запущен Европейским научным сообществом (Antonius et al., 2012).

В работах Antonius были использованы праймеры серии RJL. В наших исследованиях амплификация данного типа праймеров (Brennan et al., 2002) оказалась не успешной. С исследованиями белорусских ученых (Межнина,

Урбанович, 2017) и нашими исследованиями 6 одинаковых микросателлитных маркеров были взяты для анализа, однако в публикациях не представлены профили по каждому изучаемому сорту смородины. В работах Savanna и исследованиях, представленных в данной работе одинаковыми объектами исследований, выступили такие сорта как Blanka, Rovada и Jonker van Tets. по 7 микросателлитным локусам. В целом, можно сделать вывод, что в большинстве локусов данные совпадают. Однако, по сортам Blanka, Rovada в большинстве локусов наблюдается сдвиг размеров аллелей от 1 п.н. до 5 п.н. Так, по локусу g2-L17 полученные данные практически идентичны, небольшое различие может быть связано с бинированием. По локусу e1-O01 в исследованиях Savanna наблюдается сдвиг на 2 п.н., вероятно это связано с используемым красителем: Savanna – флуоресцентный краситель PET, в наших исследованиях – флуоресцентный краситель Rbg. Профили сорта Jonker van Tets. не имеют совпадений, можно сделать предположение что были изучены разные генотипы. Что в очередной раз подчеркивает значимость и необходимость использования сортов-контролей, в идеальном варианте – необходимость разработки стандартизированной системы (методики) идентификации генотипов с помощью микросателлитных маркеров.

Можно сделать вывод, что в настоящей работе мы впервые охарактеризовали большую выборку сортов красной смородины.

3.2. База данных микросателлитных локусов сортов красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК

По полученным данным о полиморфизме микросателлитных локусов сортов красной смородины была создана база данных (БД) полиморфизма 14 микросателлитных локусов для 74 изучаемых сортообразцов красной смородины (помимо этого база данных включает данные по сортам смородины чёрной и крыжовника) путем внесения данных в программу

Microsoft Office Excel (https://drive.google.com/file/d/1oXVSExtHPXJbWOH-T3Y_Ke1_M2ZQTwf-/view, ПАТЕНТ № 2024620177).

База данных состоит из таблиц, в которых содержатся:

- перечень исследуемых микросателлитных локусов, сиквенсы пар праймеров, температура амплификации, наборы локусов (мультиплексы) для одновременной детекции, использованные в работе флуоресцентные метки;
- перечень аллелей, амплифицируемых во всех проанализированных микросателлитных локусах на ДНК генотипов смородины красной;
- информация о родословной анализируемых генотипов, оригинаторе сорта, идентификационная формула генотипа, под которой мы подразумеваем перечень минимального количества локусов достаточных для идентификации (различения от других генотипов, перечисленных в таблице) конкретного генотипа, амплифицируемые в этом/этих локусах аллели;
- сводная таблица, характеризующая особенности наименования размеров аллелей каждого локуса, в том числе диапазон значений с точностью до сотых и средние значения (Таблица 6).

Таблица 6– Перечень аллелей, амплифицируемых на ДНК сортов красной смородины (*Ribes rubrum*)¹

№	Сорт	g1-K04	g1-M07	e1-O01	Cra-489	Cra-531	e3-B02	g2-L17	g2-G12	g2-H21	e1-O21	gr2-J05	g1-A01	g2-J08	g1-L12
1.	Алтайская рубиновая	306/307	202	136/138	241	162/165	165	125/135	179/191	251/254	308/309	179/187	216/220	169/185	222/226
2.	Альфа	306/313	202/219	136	233/237	165/177	165	137	185/191	251/254	302/309	179/187	207/222	149/185	214/228
3.	Ася	306/312	*	136/138	236	165/168	165/170	144	179/191	251/253	302/308	179/187	207/218	176	214/224
4.	Батищевская	306/319	*	132/134	233/ 237	162/168	162/165	135	179/189	249/252	302/309	187	218/222	169	224/228
5.	Баяна	306/307	*	136/138	240	165/168	165	144	185	251/254	308/309	*	*	149/168	214/228
6.	Белая крупная	306/307	202/219	134/136	233/ 240	162/165/ 177	162/165	135	189/191	253	302/308	187	222/228	168	228/234
7.	Белая Потапенко	306	202	132/136	237	168/174	162/165	135/137	179/189	251	302	179/187	207/222	169	214/228
8.	Белая фея (бывшая .Алмазная)	307/308	*	137/139	233/ 241	165/168	165	137	187/189	251/252	308/309	179/187	207/214	166	214/220
9.	Белка	306/312	202	136	237	168/171	165/170	135	179/191	251/253	302	*	220	168/176	226/228
10	Бланка (Blanka)	306/313	219	136	235	165/168	162/165	135/144	179/185	253/254	302/317	179/187	210/220	149/185	226

*нет амплификации, амплификация повторялась дважды

¹ – часть таблицы, представленной в БД https://drive.google.com/file/d/1oXVSExtHPXJbWON-T3Y_Ke1_M2ZQTwf-/view

Разработанная система микросателлитного анализа, основанная на подборе наиболее полиморфных и информативных локусов будет востребована в селекции для:

- оценки генетической подлинности, однородности и гибридности селекционных форм;
- изучения генетического разнообразия исходных форм;
- менеджмента генетических коллекций.

Разработанная система повысит эффективность работы с исходным и селекционным материалом, позволит осуществлять валидацию и уточнение родословных, что, в конечном счете, будет способствовать более быстрому и эффективному выведению новых сортов.

Полученные данные могут быть использованы в питомниководстве и садоводстве для различения сортов и форм, а также для решения правовых вопросов (например, подтверждение интеллектуальных прав селекционеров), составления генетических паспортов.

3.3. Генетическая паспортизация сортов красной смородины

На основании сформированной базы данных по полиморфизму микросателлитных локусов сортов красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК была проделана работа по составлению генетических паспортов. Генетический паспорт разрабатывается в целях проверки подлинности образцов конкретного сорта и для проверки идентичности сортового материала (Рыбаков и др., 2021; Gavrilenko, Chukhina, 2020). В настоящее время издан Приказ Министерства сельского хозяйства РФ от 26 октября 2023 г. N 814 «Об утверждении формы генетического паспорта», однако он ещё не вступил в силу и возможно ещё притерпит ряд изменений. Поэтому в настоящее время официальная форма генетического паспорта растений формируется.

Хотелось бы отметить, что в настоящее время есть два международных документа, по правилам которых осуществляется наименование культурных

растений: Международный кодекс ботанической номенклатуры (МБК), с 2011 г. – Международный кодекс номенклатуры грибов, водорослей и растений (International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants – ICN Shenzhen Code) (Turland et al., 2018) и Международный кодекс номенклатуры культурных растений (МКНКР) (International Code of Nomenclature for Cultivated Plants – ICNCP) (Brickell et al., 2016). На основании данных стандартов и правил группой ученых ВИР разрабатываются номенклатурные стандарты современных сортов картофеля (Рыбаков и др., 2021; Гавриленко, Чухина, 2020). В 2018 году во Всероссийском институте генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) был предложен принципиально новый подход к регистрации генофонда отечественных сортов (в генбанке ВИР), а именно – предложена и разработана стратегия документирования сорта не только с помощью номенклатурного стандарта, но и с применением молекулярно-генетических методов, а именно – включением информации об аллельном составе полиморфных хромосомоспецифичных микросателлитных локусов, что составляет основу генетических паспортов номенклатурных стандартов (Гавриленко, Чухина, 2020).

В нашей работе генетические паспорта сортов красной смородины содержат информацию о полиморфизме 14 SSR локусов, электрофореграммы с редкими/уникальными аллелями, редким/уникальным сочетанием аллелей и основную краткую информацию о сорте: информацию об учреждении, в котором сорт был создан; о годе внесения в Госреестр («Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию» (State Register for Selection Achievements Admitted for Usage. 2024. URL: <https://reestr.gossortrf.ru/>), информацию об авторах сорта и фотографию сорта.

Для 18 сортов красной смородины нами были сформированы генетические паспорта: Ася, Баяна, Валентиновка, Вика, Газель, Дана,

Мармеладница, Нива, Осиповская, Альфа, Константиновская, Коралл, Мечта, Надежда, Натали, Память Губенко, Ранняя сладкая, Сахарная.

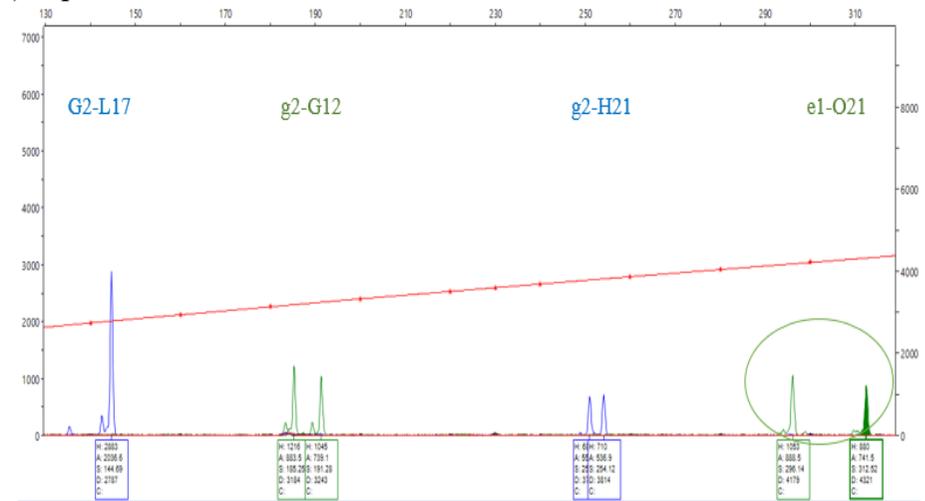
Ниже представлен генетический паспорт сорта Валентиновка (Таблица 7).

Таблица 7 – Генетический паспорт сорта Валентиновка

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Валентиновка
Оригинатор	ВНИИСПК, Орел, Россия
Происхождение	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets
Автор	Баянова Л.В.
Год внесения в Госреестр	2001
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размер (п.н.)
g1-K04	306/313
g1-M07	219
e1-O01	138/144
Cra-489	237
Cra-531	165/168
e3-B02	162/165
g2-L17	144
g2-G12	185/191
g2-H21	251/254
e1-O21	295/312
gr2-J05	187
g1-A01	207/210
g2-J08	180
g1-L12	214/216

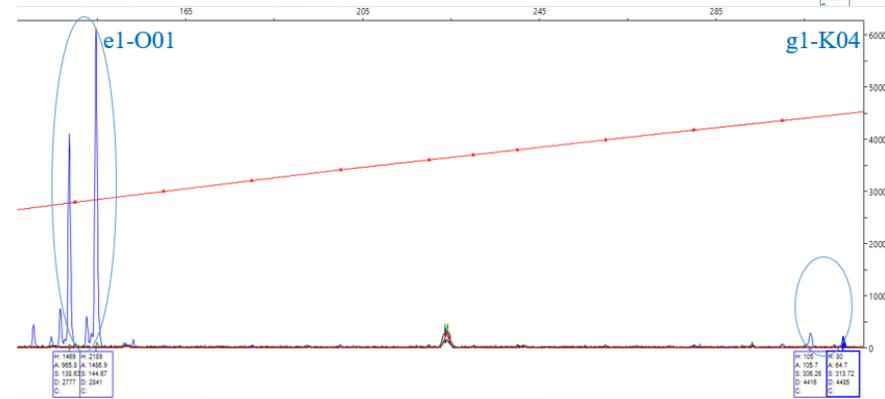
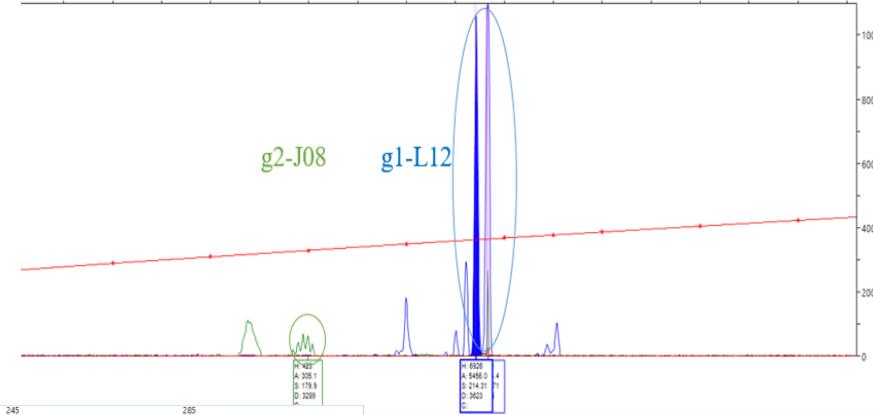
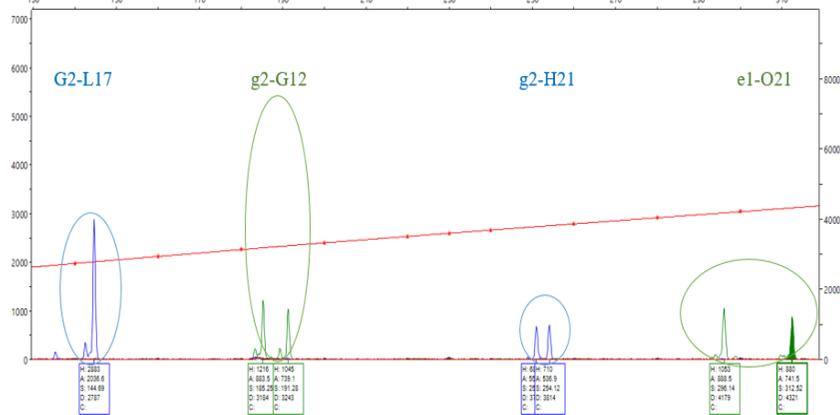
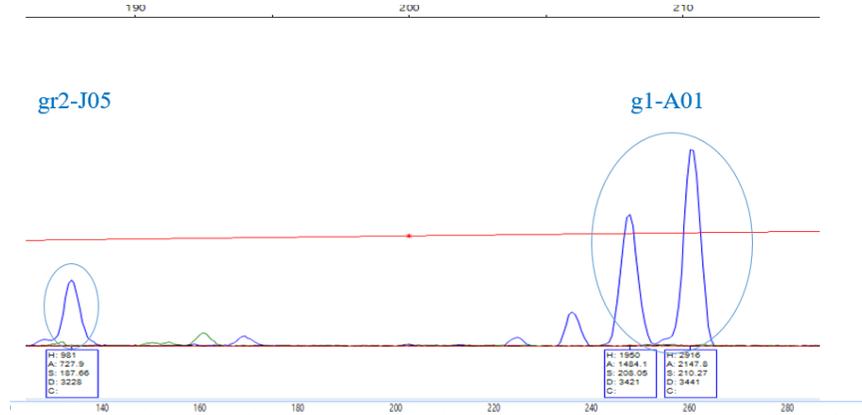
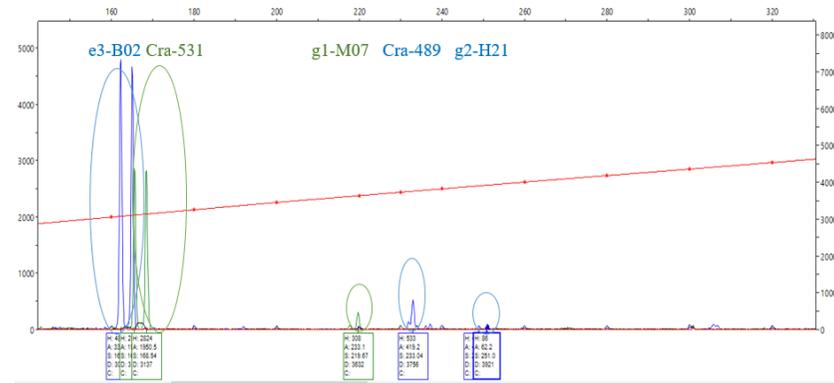


а) сорт Валентиновка



б) электрофореграмма (уникальное сочетание аллелей в локусе e1-O21)

с) электрофореграммы сорта Валентиновка (приложение к генетическому паспорту)



Представленный генетический паспорт содержит основную информацию о сорте и электрофореграммы полиморфизма по всем изучаемым микросателлитным локусам. В таблице полужирным шрифтом выделено уникальное сочетание аллелей у сорта Валентиновка. Данное сочетание аллелей у других сортов проанализированной выборки не встречается. Поэтому для идентификации сорта Валентиновка можно проанализировать всего один локус (в пределах выборки), чтобы установить сортовую принадлежность.

В результате исследований разработаны 18 генетических паспортов для сортов красной смородины различного генетического происхождения из биоресурсной коллекции ВНИИСПК. Выявлены редкие и уникальные аллели, которые могут быть использованы для целей подтверждения сортовой принадлежности и охраны авторских прав.

3.4. Изучение генетического разнообразия сортов красной смородины на основании кластерного анализа по данным микросателлитных локусов

На основе SSR спектров методом кластерного анализа была построена дендрограмма сходства для 73 сортообразцов (сорт Rote Spatlese не был включен из-за большого количества выпадов) красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК (Рисунок 2).

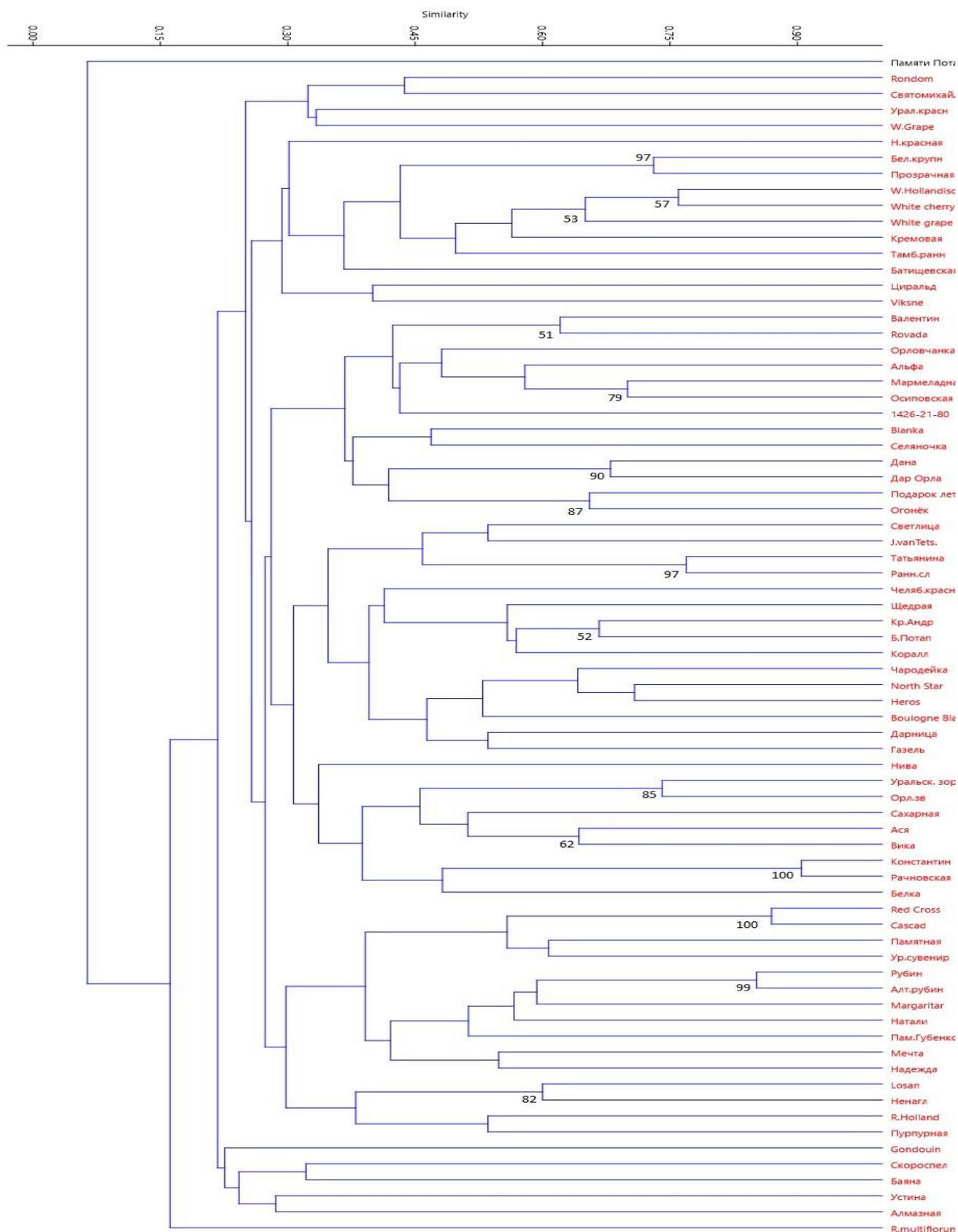


Рисунок 2 – Дендрограмма генетического сходства сортов красной смородины, построенная на основе результатов SSR анализа

Полученные по всем сортам красной смородины значения коэффициентов попарного сходства варьировали от 0,15 до 0,91

Вид смородины красной *R. multiflorum* присоединился к кластеру красной смородины на расстоянии 0,16 – это говорит о его отличии от всех проанализированных сортов красной смородины.

Внутри кластера красной смородины с максимальной бутстреп-поддержкой 100% и на близком генетическом расстоянии (коэффициент сходства 0,9) объединились сорта Константиновская и Рачновская, у которых исходные формы неизвестны. С максимальной бутстреп-поддержкой (100%) объединились сорта Red Cross (Вишневая × White grape) и Cascad (от свободного опыления сорта Diploma (Вишневая × White grape)).

С бутстеп-поддержкой 99 % объединились сорта Алтайская рубиновая (Файя плодородная × свободное опыление) и Рубин (происхождение неизвестно). Можно предположить, что сорт Рубин имеет родство с сортом Файя плодородная. С высокой БП (97%) объединились сорта Татьяна (происхождение неизвестно) и Ранняя сладкая (Чулковская × Латурнайс) на расстоянии близком к 0,75. Так же с высокой БП 97%, но на более дальнем расстоянии 0,73 группировались сорта Белая крупная (происхождение неизвестно) и Прозрачная белая (потомок смородины обыкновенной).

Подарок лета (Rote Spatlese × Jonkheer van Tets) и Огонёк (Rote Spatlese × Jonkheer van Tets) кластеризовались на близком расстоянии 0,65 с БП 87 %, что подтвердило родство данных сортов.

Сорт Уральские зори (от свободного опыления сорта Файя плодородная) и Орловская звезда (Rote Spatlese × Minnesota) БП 85 % объединились на расстоянии близком к 0,75. Однако у данных сортов не выявлено сходства в родословных.

На среднем расстоянии (0,6) кластеризовались сорта Losan (Chenonceau × Ersting aus Vierlanden) и Ненаглядная (Вишневая × (Чудесная × Rote

Hollandische)) – БП 82 %. Ersting aus Vierlanden и Rote Hollandische – потомки с. скалистой.

Сорта Осиповская (Rote Spatlese × Minnesota) и Мармеладница (Rote Spatlese × Maarses Prominent) объединились с БП 79%. Что подтверждает сходство сортов по происхождению.

Красная Андрейченко (сорт от свободного опыления сорта Red Cross) и Белая Потапенко (Red Cross × Красная сибирячка) объединились на расстоянии 0,67 с БП 52%.

Ася (Чулковская × Maarses Prominent) и Вика (Чулковская × Red Lake) имеют значение БП 62% и расстояние 0,64. Сорта Валентиновка (Rote Spatlese × Jonkheer van Tets) и Rovada (Файя плодородная × Rote Spatlese) с низкой БП 51%, на расстоянии 0,62.

В одну группу объединились сорта Weisse Hollandische (Нидерланды) и White cherry с БП 57%, но на близком расстоянии 0,76. Оба сорта являются потомками смородины обыкновенной

На дальнем расстоянии (0,4) Циральт (Цирвья Писте × *R. altissimum*) и Vīksne (от посева семян смородины Варшевича) с БП 62% (Pavlenko et al., 2021).

North Star (потомок смородины обыкновенной) и Heros (потомок крупноплодной смородины обыкновенной) объединились в кластер на расстоянии 0,71 с низкой БП 50%.

Группа учёных из Беларуси так же занимались изучением рода *Ribes* с последующим формированием единого консенсусного дерева. Ими было изучено 86 представителей рода *Ribes* с помощью 8 SSR маркеров. Генетические расстояния между образцами, исходя из полученных ими данных посредством кластерного анализа, колеблются в пределах от 0,08 до 0,84 (Межнина, 2017). В наших исследованиях генетические расстояния находятся в пределах от 0,15 до 0,9.

Таким образом, в кластере красной смородины из 15 групп с высокой бутстреп-поддержкой в 6 наблюдается явное родство генотипов по данным родословных (общие сорта в первом или втором поколении предков). При этом у ряда сгруппировавшихся вместе сортов родословные неизвестны (не известен хотя бы один или оба родителя).

Генетическое разнообразие красной смородины с использованием ДНК-маркеров изучались в основном совместно с другими представителями *Ribes*, такими как черная смородина, крыжовник и другие (de Mattia et al., 2008; Пикунова и др., 2015; Antonius et.al., 2012; Palmieri et.al., 2013 и другие).

Например, в работе Palmieri et al. (2013) 46 сортов красной смородины в сочетании с сортами черной смородины были охарактеризованы по 10 микросателлитным маркерам. На основе результатов была построена дендрограмма генетического сходства. В отчете Mattia et al. (2008) маркеры AFLP и хлоропластные SSR были использованы для изучения 17 сортов красной смородины наряду с дикорастущими популяциями *Ribes petraeum* и крыжовника. Наиболее масштабная работа по количеству проанализированных сортов была проведена Antonius и др. (2012), где 202 сорта красной смородины из девяти различных европейских коллекций были проанализированы пятью SSR маркерами для создания нецентрализованной коллекции. Таким образом, сделанная нами работа является самой масштабной работой по изучению отечественного генофонда красной смородины с применением ДНК маркеров.

3.5. Исследование генетического разнообразия красной смородины с помощью GBS анализа

На сегодняшний день, согласно опубликованным работам и приведенному обзору литературы, коллекции генофонда смородины были генотипированы с использованием таких маркеров, как SSR (Antonius et al., 2012; Palmieri et.al., 2013), AFLP, SSR хлоропластные (cp) SSR (de Mattia

et.al., 2008), ISSRs (Lanham et.al., 2020) и RAPD (Пикунова и др., 2011; Lanham et.al., 2020).

В настоящее время при изучении коллекций предпочтение отдается не только микросателлитным, но и SNP-маркерам (Larsen, 2018; Urrestarazu, 2016). Larsen и др. (2018) утверждают, что GBS превосходит традиционные подходы SSR, поскольку позволяет выявлять гораздо более детальную структуру популяции и может быть в дальнейшем использована в исследованиях ассоциаций по всему геному (GWAS).

Однако, ни один из генофондов смородины не был исследован с использованием информации о маркерах высокой плотности по всему геному, таким как SNP маркеры, выявленным методом генотипирования путем секвенирования (GBS).

В данном разделе исследований было продолжено изучение генетического разнообразия генофонда красной смородины. Как известно, в классическом (традиционном) подходе изучение генетического разнообразия основывается на фенотипических данных и на анализе родословных. Однако достаточно часто родословные сортов неизвестны, содержат неполную или недостаточно проверенную информацию.

Среди всех проанализированных образцов 26 являются потомками *Ribes rubrum*, 14 гибридов *Ribes rubrum* × *Ribes petraeum*, 19 образцов, содержащих одновременно в родословной все три вида: *R. petraeum*, *R. multiflorum*, *R. rubrum*, один потомок *R. spicatum* и один потомок *Ribes warszewiczii* и два потомка *R. multiflorum* от F₁ (Rondon) и от F₂ (Дарница). Родословная 10 образцов в настоящее время неизвестна.

В результате секвенирования было получено в среднем 1,5 млн прочтений. В общей сложности было обнаружено более 8,5 тыс. биаллельных SNP маркеров. Среди вариантов было 5249 транскрипций и 3334 трансверсии (соотношение транскрипций к трансверсиям составило

1,57). Средняя глубина считывания (DP) составила около 7,92 SNP с высокой долей утраченных данных (>89,5%) были отфильтрованы.

На основе полученных данных GBS был проведен анализ многомерного масштабирования (MDS) (Рисунок 3).

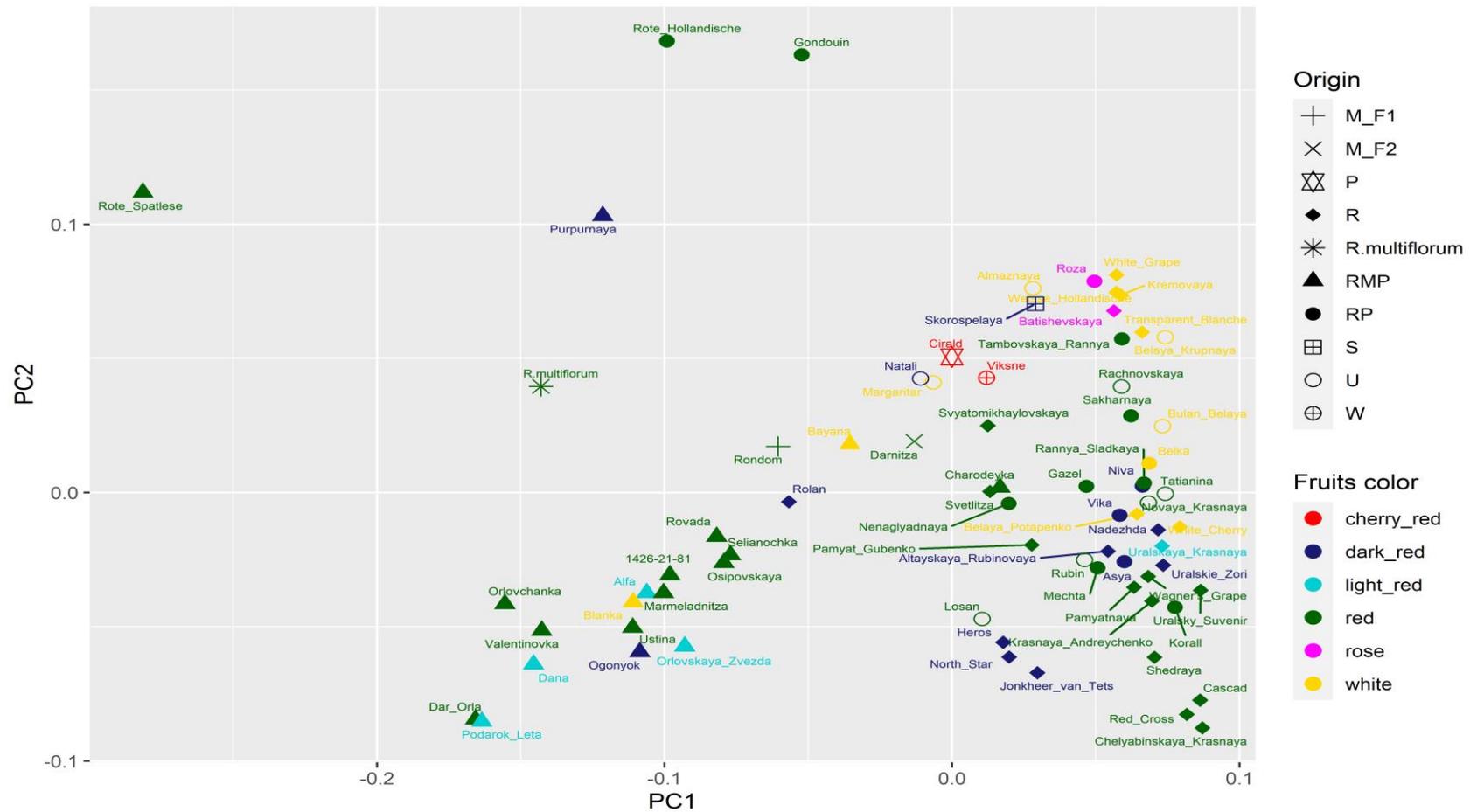


Рисунок 3 - График MDS основан на данных GBS о полиморфизме 75 генотипов красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК. M_F₁ – F₁ потомок *R. multiflorum*; M_F₂ – F₂ потомок *R. multiflorum*; P – F₁ потомок *R. altissimum*; R – потомок *R. rubrum*; RMP – потомок *R. rubrum*, *R. multiflorum* и *R. petraeum*; RP – потомок *R. rubrum* и *R. petraeum*; S – потомок *R. palczewskii*; U – происхождение неизвестно, W – потомок *R. Warszewiczii*

Старые сорта Gondouin (*R. petraeum* × *R. vulgare*) и Rote Hollandische (*R. petraeum* × *R. rubrum*), которые являются потомками *R. petraeum* F₁, занимают самую верхнюю позицию на графике, и они генетически значительно отличаются от других генотипов. Вполне вероятно, что именно близость к *R. petraeum* объясняет их существенное отличие от других сортов.

Также потомок *R. petraeum* F₂ и *R. multiflorum* F₁ – сорт Rote Spatlese (Rote Hollandische × Andenken an Lorgus) является наиболее генетически изолированным на графике MDS.

R. multiflorum ближе к основной группе образцов, чем три вышеупомянутых образца. Сорт Пурпурная (F₁ Rote Spatlese) расположен между Rote Hollandische и *R. multiflorum*.

Остальные генотипы сгруппированы вместе и относительно равномерно распределены по площади, напоминающей треугольник.

Сорт Циральт, имеющий в родословной по отцовской линии *R. altissimum*, относящийся к ряду *Petraea* A. Rojark. генетически не был отделен от основной группы образцов. Вероятно, требуются дополнительные данные, чтобы подтвердить, имеет ли сорт Циральт родственные связи с *Ribes petraeum*.

Потомки в первом поколении от двух разных видов *R. warszewiczii* (Viksne) и *R. palczewskii* (Скороспелая) расположены довольно близко друг к другу и не демонстрируют существенных отличий от современных сортов – они находятся среди потомков *Ribes rubrum* и межвидовых гибридов.

Почти все потомки *R. multiflorum* расположены в левой части графика MDS. Только сорт Чародейка (Jonkheer van Tets × Rote Spatlese) оказался ближе к другим сортам (образуют на графике треугольник), полученным от *R. rubrum* и межвидовых гибридов от *R. rubrum* и *R. petraeum*, без участия *R. multiflorum*. По морфологии (сроки созревания ягод, длина кисти, вкус ягод, габитус куста) сорт Чародейка не имеет сходства с Rote Spatlese.

В правом нижнем углу этого треугольника представлена группа из двух сортов, выведенных в США (Cascade, Red Cross), и российского сорта Челябинская красная неизвестного происхождения. Группа в верхнем углу треугольника сформирована в основном белоплодными и розовоплодными сортами. Левый нижний угол занимают близкородственные сорта Дар Орла и Подарок лета селекции ВНИИСПК, происходящие от скрещивания Rote Spatlese × Jonkheer van Tets. Хотелось бы отметить, что, согласно литературным данным, при проверке родословных, в том числе плодовых и ягодных культур, с использованием анализа микросателлитных локусов нередко обнаруживаются ошибки (Пикунова и др., 2015; Girichev et al., 2017; Cipriani et al., 2010 и другие работы). Так, в проведенных исследованиях сорт Чародейка был отделен от остальных потомков *R. multiflorum* на графике MDS. Вероятно, она не была получена от пыльцы Rote Spatlese и, следовательно, не связана с *R. multiflorum*. Однако эта гипотеза нуждается в дальнейшем исследовании. Для четкого сравнения потока аллелей от родителей желательно проанализировать обе родительские формы и сам сорт Чародейка по полиморфизму микросателлитных локусов.

Admixture анализ GBS-данных выборки сортов красной смородины, содержащей 75 сортов различного происхождения выявил 6 кластеров (Рисунок 4).

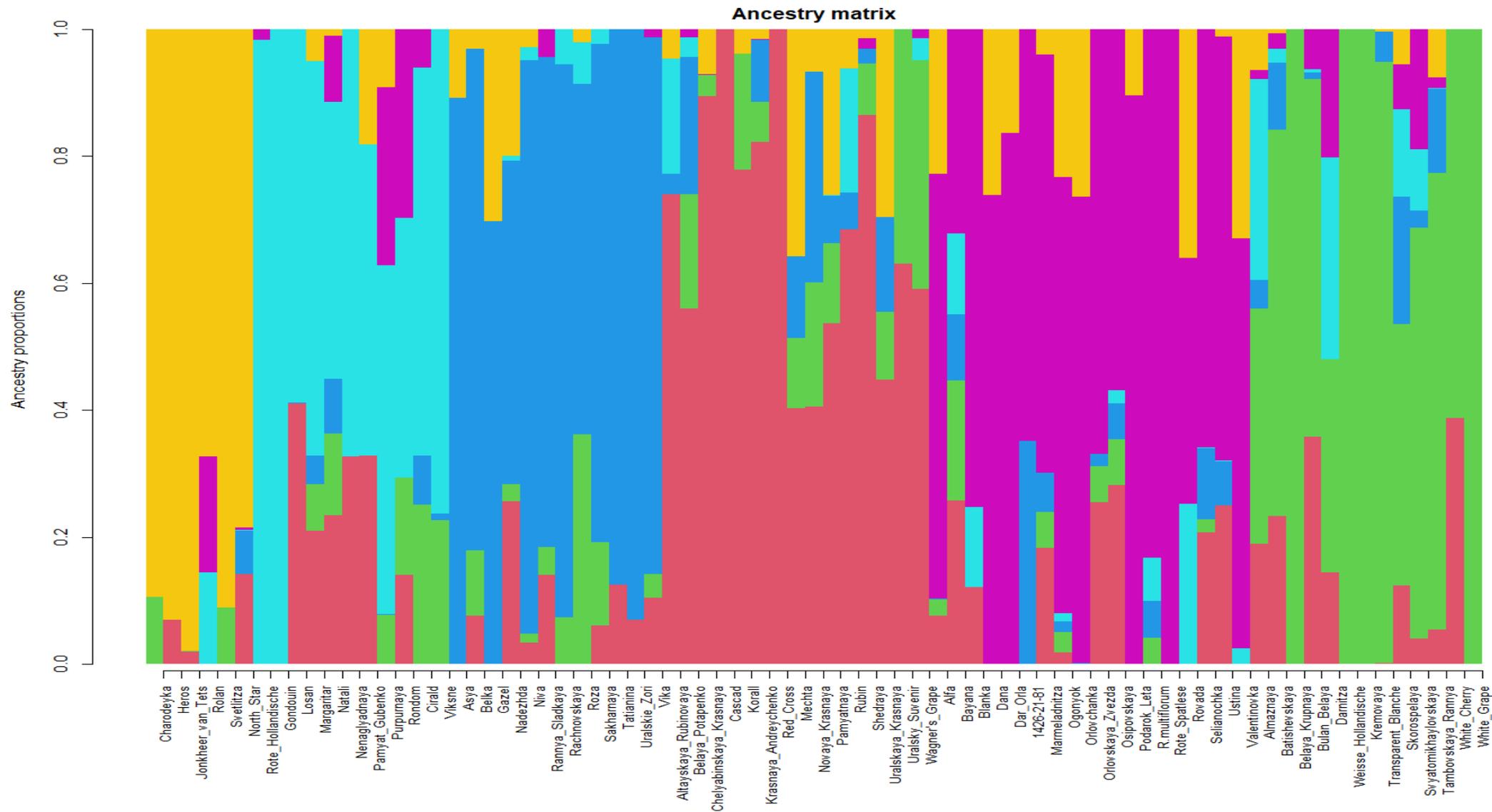


Рисунок 4 – Популяционная структура 75 генотипов красной смородины. Различными цветами указаны кластеры. По оси x указаны названия сортов анализируемой выборки. Ось y – указывает на вероятность того, что каждый генотип принадлежит к определенному кластеру

В первый кластер вошли 6 сортов: Чародейка, Heros, Jonkheer van Tets, Rolan, Светлица и North Star. Четыре сорта по родословным родственны с сортом Jonkheer van Tets (Рынок Лондона × пот. смородины красной), и три сорта являются его потомством (Чародейка, Rolan, Светлица). Интересно отметить, что из всей проанализированной выборки 11 сортов имеют сходство по происхождению с сортом Jonkheer van Tets, однако только три из них группируются совместно с ним. Ещё два генотипа разместились в данном кластере – Heros (Германия, потомок *F₁ R. vulgare. var macrocarpum*) и North Star (США, потомок *R. vulgare*). То, что Чародейка вошла в первый кластер, еще раз заставляет сомневаться в подлинности данного сорта.

Во второй кластер вошли 11 сортов. Пять сортов по родословным относятся к потомкам *R. petraeum*: два сорта в первом поколении *F₁* (Gondouin, Rote Hollandische), два во втором поколении *F₂* (Ненаглядная, Rondon) и один сорт в третьем поколении *F₃* (Пурпурная). Очевидного родства с остальными сортами кластера не было выявлено по родословной у сортов Viksne (пот. *R. warczewiczi*), Циральт (пот. *R. altissimum* – входит в ряд *Petraea*) и Память Губенко (Файя плодородная × ?). Интересно отметить, что Ненаглядная и Rondon получены в результате опыления смесью пыльцы нескольких сортов, одним из которых являлся Rote Hollandische. Admixture-анализ показал размещение сортов Ненаглядная и Рондом вместе с Rote Hollandische. Таким образом, мы предполагаем, что это подтверждает происхождение сортов Ненаглядная и Rondon от Rote Hollandische.

В третьем кластере 10 из 12 сортов являются потомками *R. rubrum* в *F₁* и *F₂*. Родословные двух сортов неизвестны (Рачновская, Татьяна).

Кластер 4 включает набор из 15 сортов. Для двух сортов родословные неизвестны (Новая красная и Рубин). Одиннадцать сортов, очевидно, связаны происхождением как *F₁*, *F₂* и *F₃* потомки от *R. vulgare var. macrocarpum*. Стоит отметить, что кластеризация сорта Мечта неоднозначная, поскольку менее половины ее столбика окрашено в цвет кластера.

В пятый кластер вошло 18 сортов: *R. multiflorum* и часть его потомства. Четыре сорта (Дарница, Rondon, Rolan, Пурпурная) из потомства *R. multiflorum* вошли в разные кластеры, возможно, из-за других предков.

Шестая группа включила в себя 13 сортов изучаемой выборки красной смородины. Восемь из них белоплодные, а у одного ягоды розового цвета. Четыре сорта с белой окраской ягод являются потомками F_1 от *R. vulgare*. У других четырех сортов с белыми плодами происхождение неизвестно. В этот кластер вошли восемь из 13 сортов с белыми плодами, возможно, они наиболее близки к *R. vulgare*. Помимо сортов с белыми и розовыми плодами, в шестой кластер входят четыре сорта с красными плодами. Два из них, Дарница и Святомихайловская, состоят в родстве друг с другом по отцу (Алтайская ранняя, в анализ не вошла, родословная неизвестна). Между другими красноплодными сортами данного кластера, а именно Тамбовская ранняя и Скороспелая очевидного родства не обнаружено.

Admixture-анализ выявил присутствие примесей SNP из других кластеров во всех кластерах, что подчеркивает сложную родословную большинства проанализированных сортов. Внутри кластеров большинство образцов связаны родословной. Предположительно, кластеризация отражает родство с *R. petraeum* (кластер 2), *R. rubrum* (кластер 3), *R. vulgare var macrocarpum* (4), *R. multiflorum* (5), *R. vulgare* (6) и Jonkheer van Tets (1). F_1 *R. altissimum Turcz* и F_1 *R. warscewiczis Jancz.* расположены внутри кластера, связанного с *R. petraeum*. F_1 от *R. palczewskii* (Jancz.) расположен внутри кластера, связанного с *R. vulgare*.

MDS график и Admixture-анализ дополняют друг друга. На графике MDS сорта красной смородины из одного кластера расположены в основном вместе (Рисунок 4). Например, сорта 5-го кластера (*R. multiflorum* и его потомки) занимают почти половину графика MDS. Сорта 3-го, 4-го и 6-го кластеров относительно компактно сгруппировались вместе на графике MDS.

Некоторую долю двусмысленности в вопросы филогении вносит нестабильная таксономическая классификация внутри самого рода *Ribes*. На данный момент таксономическое положение отдельных видов красных смородин окончательно не установлено. Систематика *Ribes* не до конца ясна не только из-за сложностей разделения на подроды, но и неоднозначным взглядам на видовой состав данного рода (Sorokopudov et al., 2005; Zhang et al., 2023). Филогения и внутривидовые отношения рода остаются весьма спорными и по причине широкого географического распространения и большой доли межвидовой гибридизации. Например, раньше считалось, что *R. Palczewskii* – это разновидность смородины красной, а в настоящее время отмечается, что ряд видов, в том числе и *R. palczewskii* имеют неясное систематическое положение. Можно сделать вывод, что таксономия рода *Ribes*, вероятнее всего будет изменяться по мере накопления полногеномных молекулярно-генетических данных.

Сравнивая данные микросателлитных локусов и GBS анализа можно отметить, что в целом данные совпадают и взаимоподтверждаются – практически у всех групп сортов с высокой бутстреп-поддержкой так же объединились в кластеры при проведении GBS анализа. Исключение составили сорта Орловская звезда (*Rote Speatlese* × *Minnesota*) и Уральские зори (от свободного опыления сорта Файя плодородная). По GBS анализу они сгруппировались в кластерах 5 и 3 соответственно. Однако при анализе по микросателлитным локусам данные сорта объединились с высокой бутстреп-поддержкой – 83%. Так как в происхождении данных сортов нет общих предков, можно предположить, что всё же данные сорта входят в разные кластеры и GBS анализ наиболее точно это подтверждает.

Таким образом, в наших исследованиях показано, что большинство сортов красной смородины имеют высокую степень генетического сходства, но одновременно было выявлено несколько генетически отличных сортов. Последние были результатом межвидовой гибридизации. Следовательно,

существует потенциал для значительного расширения генетического разнообразия красной смородины и применения межвидовых скрещиваний для дальнейшего изучения и использования в селекции.

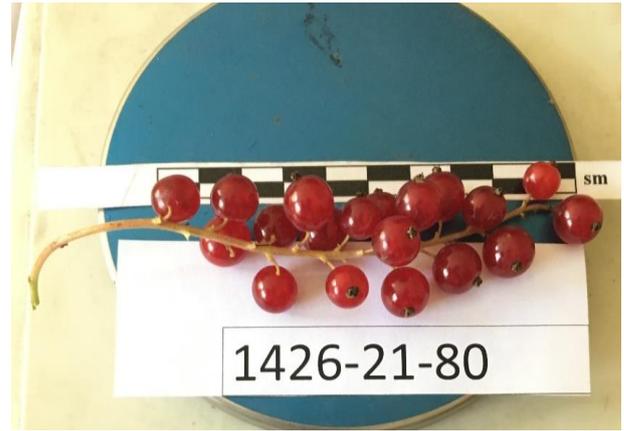
3.6. Анализ полиморфизма SSR локусов в расщепляющейся популяции

В целях дальнейшего генетического картирования изучен полиморфизм микросателлитных локусов гибридной семьи 133 сеянцев красной смородины от скрещивания сорта Белая Потапенко (Red Cross × Красная сибирячка) и гибридной формы 1426-21-80 (82-4-11 (Rote Spatlese × Чулковская) × 78-2-118 (Rote Spatlese × Maarses Prominent)).

Родители различны по своим фенотипическим показателям. Сорт Белая Потапенко имеет отчетливый желтовато-белый цвет ягод, отборный сеянец 1426-21-80 имеет ярко выраженный красный цвет (Рисунок 5). Материнская форма Белая Потапенко устойчива к мучнистой росе (*Sphaerotheca morsivae*), отцовская форма 1426-21-80 отличается восприимчивостью. Кисти сорта Белая Потапенко короткие, у формы 1426-21-80 – длинные, достигающие 13 см. Так же сорт Белая Потапенко выделяется относительно невысоким габитусом куста, в то время как 1426-21-80 – довольно высокий куст.



а)



б)

Рисунок 5 – Родители изучаемой гибридной семьи:

а) сорт Белая Потапенко б) отборный сеянец 1426-21-80

Более 60 пар праймеров к микросателлитным локусам были взяты в анализ для тестирования на небольшой выборке образцов смородины красной.

Из протестированных пар праймеров к микросателлитным локусам большинство оказались непригодными для картирования по следующим причинам: амплифицировали фрагменты свыше 500 п.н, амплифицировали неpolиморфные ПЦР-продукты, не амплифицировали на ДНК родителей гибридной популяции при минимальной температуре отжига в 50 °С, показывали нетипичный для микросателлитных локусов профиль амплификации (большое количество фрагментов в широком диапазоне, не исчезающих при повышении температуры отжига) и др.

Данные 18 локусов (Cra-531, Cra-489, g1-A01, e3-B02, g2-B20, g1-K04, g1-M07, g2-J08, g2-G12, e1-O01, e1-O21, g1-L12, g2-J11, gr2-J05, e1-020, g1-po1, 37, 29) были протестированы и проанализированы на всей гибридной семье. Однако в дальнейшем локусы e1-020, g1-po1, 37, 29 были исключены из дальнейшего анализа в связи с неспецифической амплификацией.

В локусе g2-G12 у каждого из родителей выявлено по два различных аллеля, соответственно, в гибридной популяции наблюдаются в различном

сочетании 4 аллеля (Рисунок 6), что чётко прослеживается при визуализации на ПААГ.

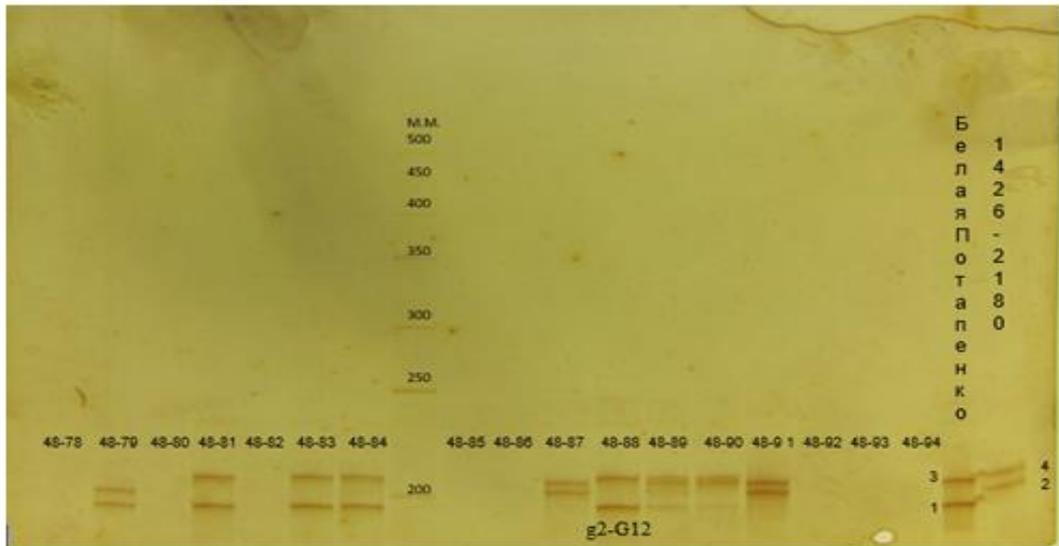


Рисунок 6 – Электрофореграмма ПЦР продуктов локуса g2-G12 в 8% ПААГ с окрашиванием нитратом серебра м.м. – маркер молекулярного веса

В ряде локусов амплифицировалось по 3 аллеля на гибридных сеянцах: Cra-531, g1-A01, g2-B20, g2-J08, e1-O01, g1-P01, g1-L12 (Рисунок 7).

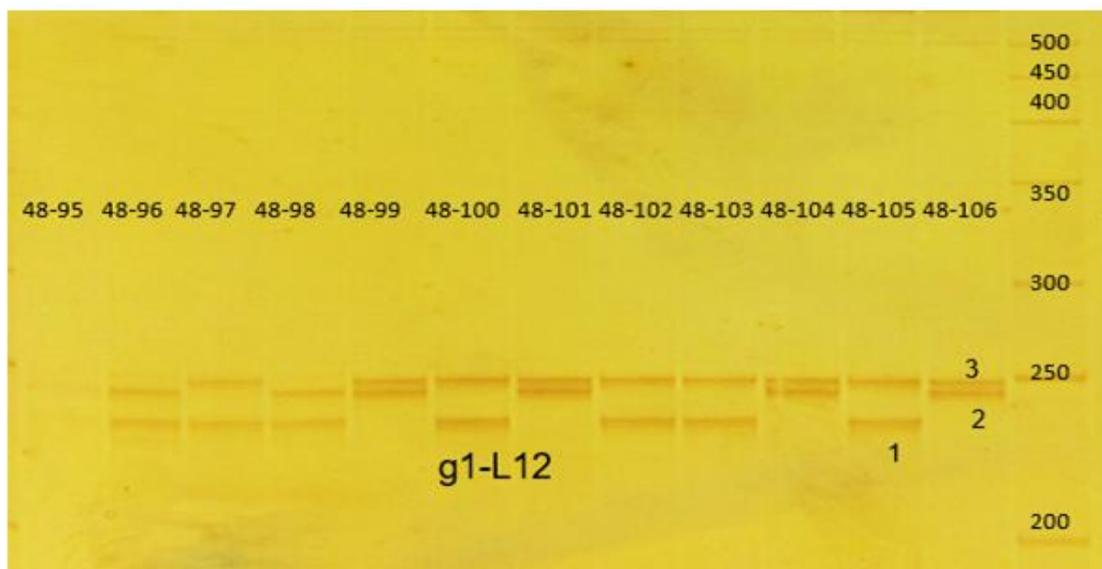


Рисунок 7 – Электрофореграмма ПЦР продуктов локуса g2-L12 в 8% ПААГ с окрашиванием нитратом серебра, м.м. – маркер молекулярного веса

Два аллеля на гибридных сеянцах амплифицировались в 4 локусах Cra-489, gr2-J05, g-K04, e3-B02 и в локусе e1-O21. На представленной

электрофореграмме (Рисунок 8) четко прослеживается амплификация 2 аллелей у исследуемых образцов изучаемой гибридной семьи.

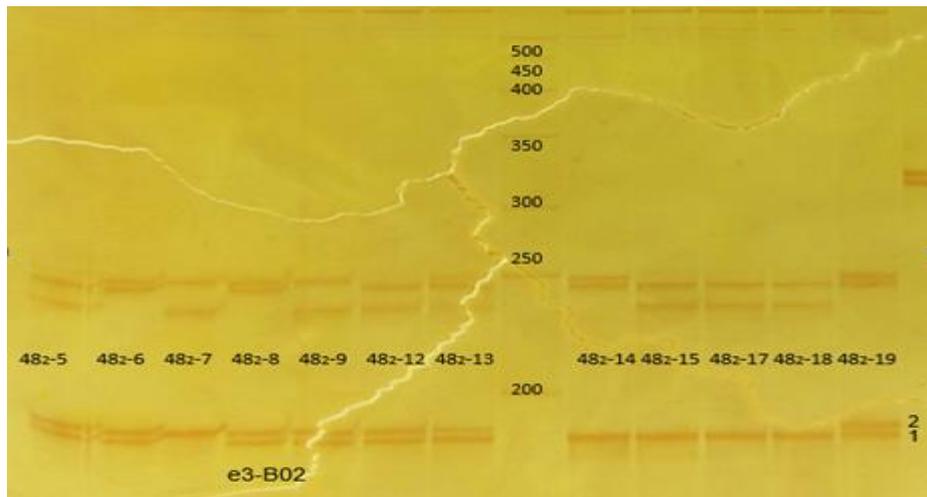
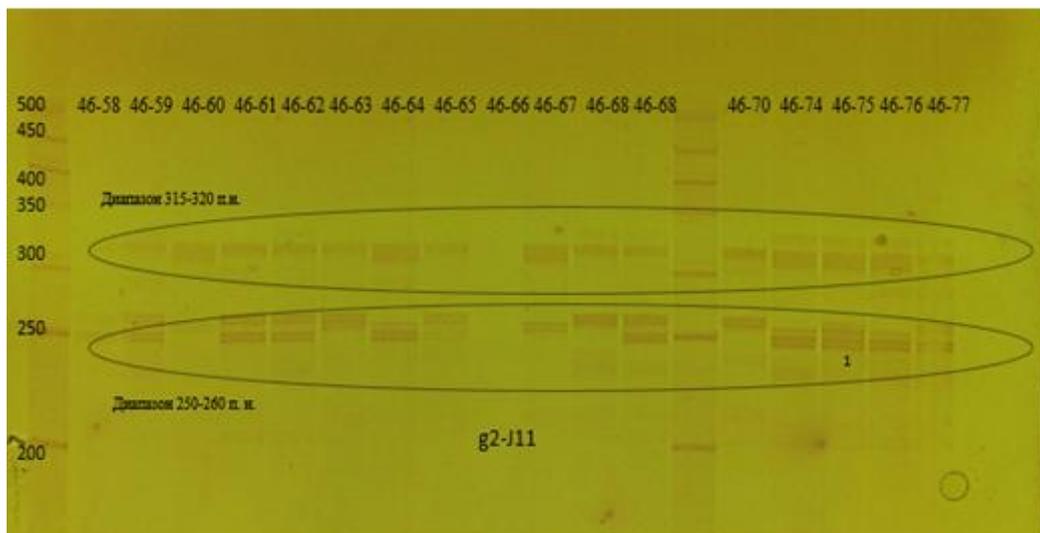
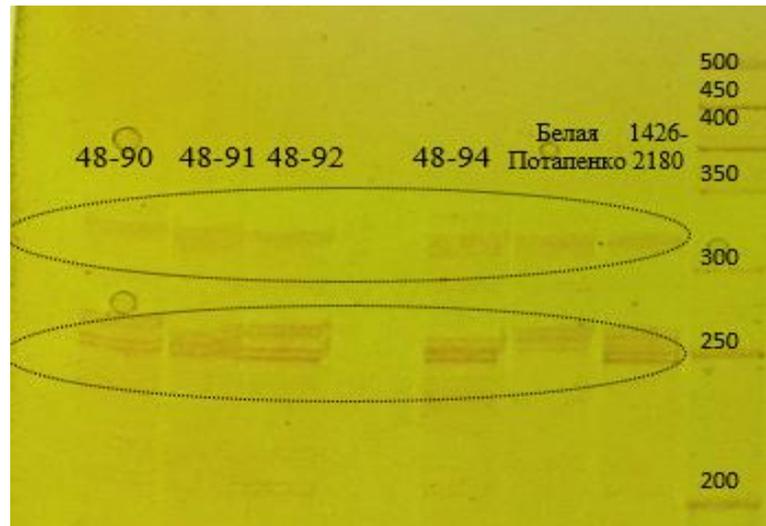


Рисунок 8 – Электрофореграмма ПЦР продуктов локуса e3-B02 (нижняя часть геля) в 8% ПААГ с окрашиванием нитратом серебра, м.м. – маркер молекулярного веса

Гибридов, амплифицирующих аллели, отсутствующие у обоих родителей (outcrosses) не обнаружено. В локусе g2-J11 фрагменты амплифицируются в двух различных диапазонах: 250-260 п.н. и 315-320 п.н., вероятно наблюдается дупликация данного локуса в геноме (Рисунок 9).



а) Электрофореграммы ПЦР продуктов на гибридах расщепляющейся популяции



б) Электрофореграммы ПЦР продуктов на гибридах и родителях
расщепляющейся популяции локуса

Рисунок 9 – Электрофореграммы ПЦР продуктов локуса g2-J11 в 8% ПААГ с окрашиванием нитратом серебра, м.м. – маркер молекулярного веса

Анализ распределения родительских аллелей в исследуемых локусах показал, что у большинства гибридов распределение аллелей соответствует теоретически ожидаемому, однако выявлено несколько гибридов (2466-46-85 и 2466-48₂-12) у которых в двух локусах амплифицируются 3 фрагмента – 2 от материнской формы и 1 от отцовской.

В результате получены первичные данные полиморфизма гибридной семьи по 14 микросателлитных локусам, которые были внесены в Excel и использованы для картирования. Ниже представлен аллельный состав по 14 SSR локусам на родительских формах изучаемой гибридной семьи (Таблица 8).

Таблица 8 – Аллельный состав 14 SSR локусов родительских форм гибридной семьи

№ п/п		Белая Потапенко	1426-2180
1.	gr2-J05	179/187	187
2.	g1-M07	202	202/219
3.	g1-K04	306	306/313

4.	g2-J08	169	149/185
5.	g2-B20	175/180	200
6.	Cra-489	237	233/236
7.	e1-O21	302	302/309
8.	e3-B02	162/165	162/165
9.	g1-A01	207/222	207/218
10.	g1-L12	214/228	214/224
11.	e1-O01	132/136	136/144
12.	Cra-531	168/174	168/171
13.	g2-G12	179/189	185/191
14.	g2-J11	260/315/320	250/255/320

3.7. Построение генетической карты красной смородины на основании SNP и SSR маркеров

Построение генетической карты является достаточно важным инструментом для дальнейших геномных исследований, а также для генетической селекции экономически важных сортов сельскохозяйственных культур. Высокосыщенные карты генетических связей важны для селекционеров (Dhingani et al., 2015).

Генетическая карта групп сцепления красной смородины включает как микросателлитные маркеры, так и SNP маркеры, для обнаружения которых использованы методы секвенирования нового поколения NGS (New Generation Sequencing) и генотипирования путем секвенирования (Genotyping by sequencing).

В работе была использована гибридная популяция (Белая Потапенко × 1426-21-80), в которую вошло 133 гибрида.

Картируемая семья имеет сложное генетическое происхождение, в котором задействованы такие виды как смородина красная (*R. rubrum*), смородина обыкновенная (*R. sativum*), смородина обыкновенная

крупноплодная (*R. sativum* var. *macrocarpum*), смородина скалистая (*R. petreum* Wulf.), смородина многоцветковая (*R. multiflorum*).

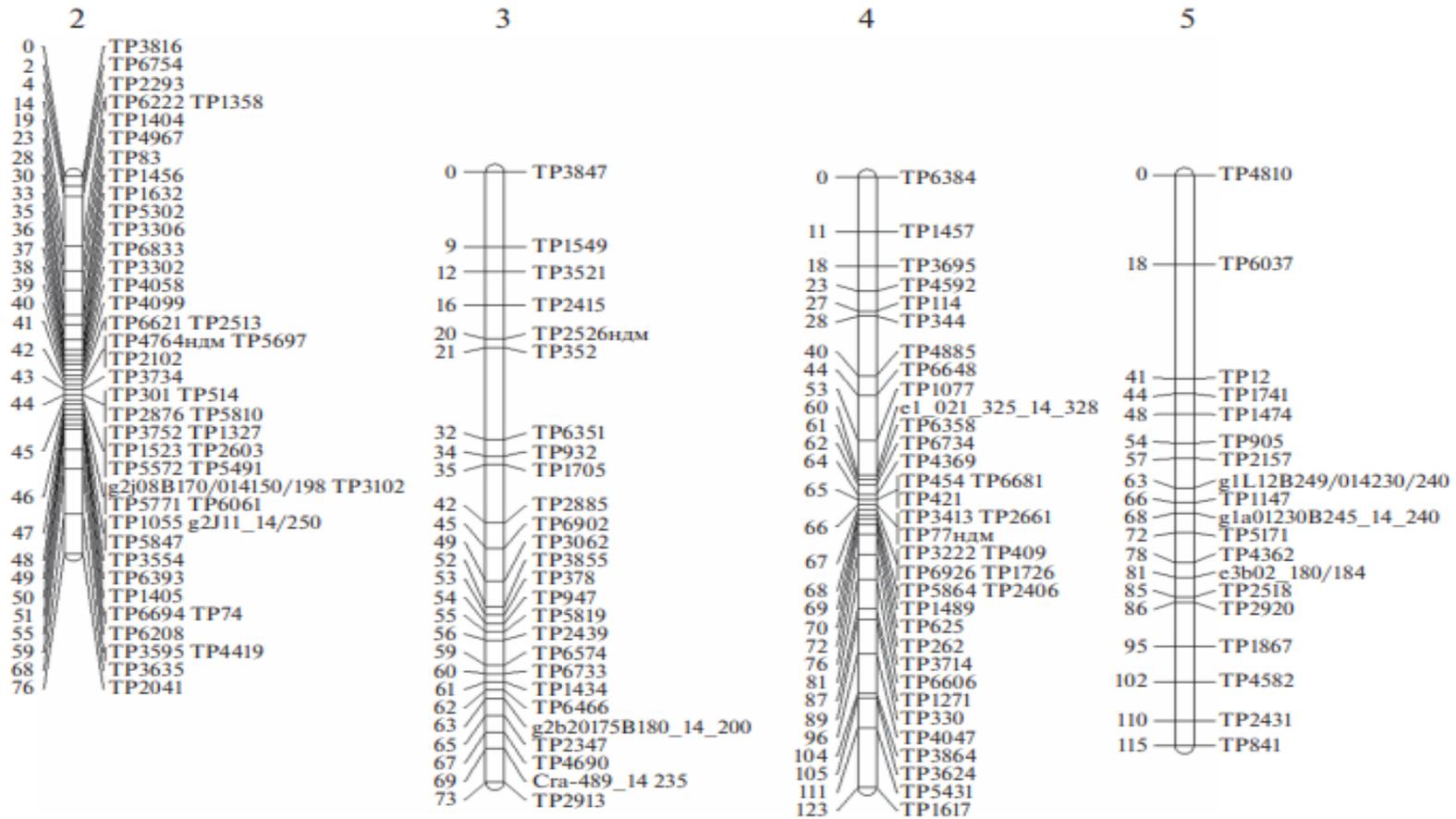
Для картирования были использованы данные о полиморфизме 14 микросателлитных локусов (Таблица 9).

Таблица 9 – Локализации микросателлитных локусов на генетической карте красной смородины

№	Локус	Группа сцепления
1.	gr2-J05	Не группирован (ungrouped)
2.	g1-M07	Не группирован (ungrouped)
3.	g1-K04	Не группирован (ungrouped)
4.	g2-J08	2
5.	g2-B20	3
6.	Cra-489	3
7.	e1-O21	4
8.	e3-B02	5
9.	g1-A01	5
10.	g1-L12	5
11.	e1-O01	6
12.	Cra-531	6
13.	g2-G12	7.1
14.	g2-J11	2, 7.2?

В результате секвенирования ДНК-библиотек с уменьшенной сложностью генома, созданных на ДНК гибридной популяции и родителей, было получено 382373581 прочтений хорошего качества. После удаления адаптерных последовательностей и выявления SNP с помощью программы Tassel 5.0 было обнаружено 5741 SNP. В популяции для картирования было использовано 667 SNP маркеров.

В результате картирования построено восемь групп сцепления с уровнем LOD 10 (Рисунок 10), в которые вошли 299 локусов, в том числе 12 микросателлитных и 287 SNP маркеров, общая длина всех групп сцепления составила 741 сМ, средняя – 93 сМ.



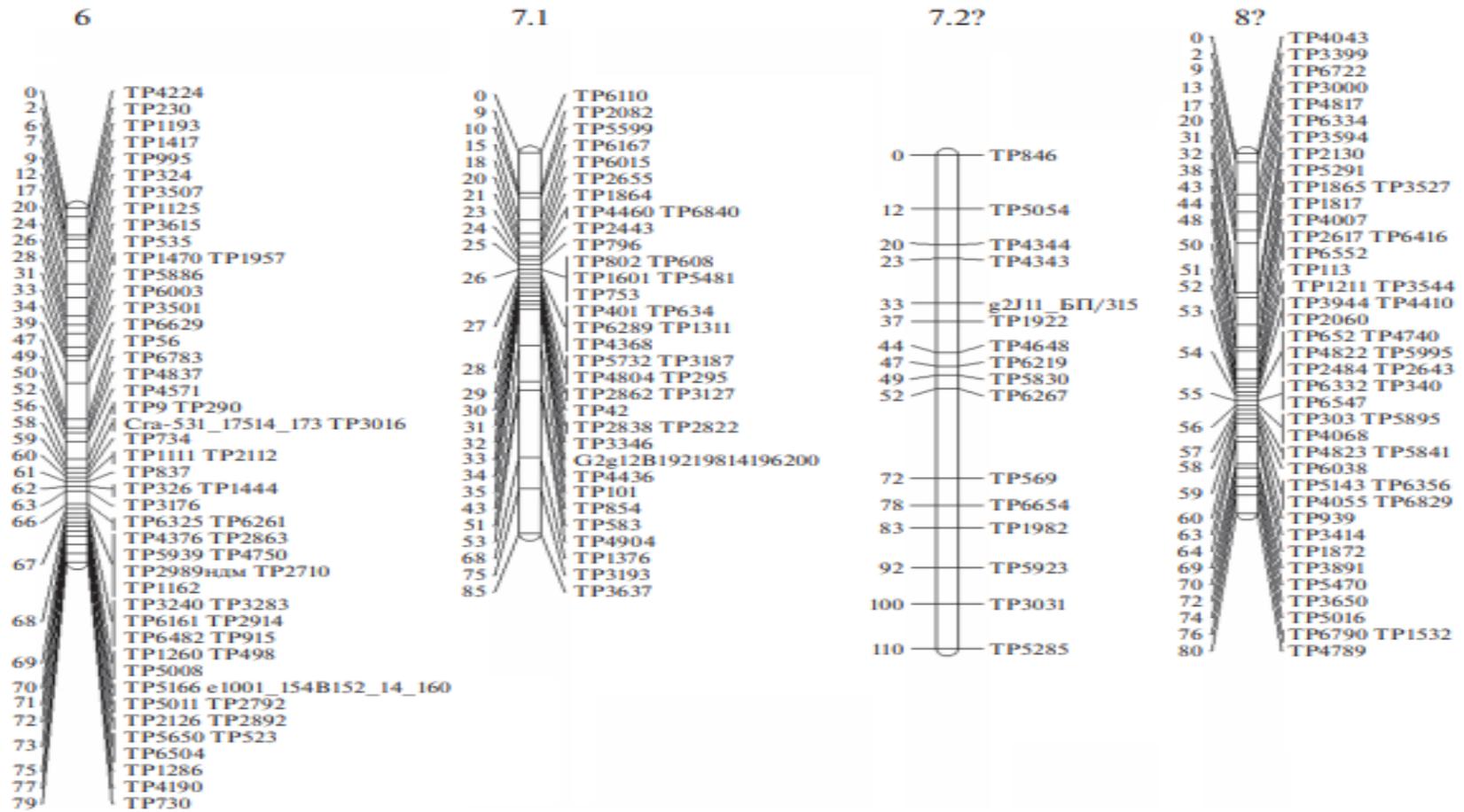


Рисунок 10 – Генетическая карта красной смородины

Три микросателлитных локуса не вошли ни в одну из групп сцепления (ungrouped) – это gr2-J05, g1-M07, g1-K04; интересно отметить, что данные локусы находятся на одной группе сцепления № 1 генетической карты смородины черной. Более половины SNP маркеров также оказались вне групп сцепления. В семи из восьми групп сцепления картирован хотя бы один микросателлитный ДНК-маркер (Пикунова и др., 2020).

На полученной карте группы сцепления пронумеровали сообразно группам сцепления ранее опубликованной генетической карты смородины черной (Brennan *et al.*, 2008) опираясь на локализацию одинаковых микросателлитных локусов. При этом локусы e3-B02, g1-A01, g1-L12, картированные вместе на 5-й группе сцепления смородины черной, на полученной нами карте смородины красной также размещаются на одной группе сцепления. Локусы g2-J08, g2-B20, e1-O21, e1-O01 на карте черной смородины, размещенные соответственно в группах сцепления 2, 3, 4, 6, на нашей карте также находятся каждый в отдельной группе сцепления (Рисунок 10). Противоречит локализации на карте смородины черной положение локуса g2-J11. Картированный в геноме смородины черной на 7-й группе сцепления вместе с локусом g2-g12, на нашей карте локус g2-J11 не примкнул к локусу g2-g12, а вошел в отдельную группу сцепления (условно обозначенную как 7.2?).

Кроме того, в связи с предположенной выше дупликацией g2-J11 в геноме красной смородины данный локус был также картирован на группе сцепления 2 вместе с локусом g2-J08. Одна из полученных групп сцепления составлена полностью из SNP-маркеров и, возможно, представляет восьмую группу сцепления, так как микросателлитные локусы, картированные на 8-й группе сцепления генетической карты смородины черной, не прошли первоначальное тестирование по одной из причин, описанных выше, и не были использованы в картировании генома смородины красной. Таким образом, большинство локализованных нами на карте красной смородины

микросателлитных локусов корреспондируют к положению локусов на группах сцепления смородины черной. Локализовано также два новых, ранее не картированных и не опубликованных микросателлитных локуса. Дизайн праймеров к ним осуществлялся на базе сиквенсов *Ribes americanum*. Это локус Cra-489 (F: 5'-ТСТАТТАТСАСАСССТСААСАА-3', R: 5'-GTTTАТАСGАСАСАТСААСТТТССА-3') к пентануклеотидным повторам в геноме, и локус Cra-531 (F: 5'-AGAAGTGAAAGTGGAAGAACC-3', R: 5'-GTTTGTTTGAAGGAAGACAGAGA-3') к тринуклеотидным повторам, локализованные в данной работе на группах сцепления смородины красной № 3 и № 10 соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе выполнения диссертационной работы проведена масштабная работа по изучению генетического разнообразия 76 сортообразцов красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК и проведено изучение структурной организации генома красной смородины в гибридной семье F_1 от скрещивания ос 1426-2180 × Белая Потапенко путем генетического картирования.

В результате проведения исследований по изучению генетического разнообразия красной смородины в расщепляющейся гибридной популяции составлена первая в мире генетическая карта групп сцепления красной смородины с применением таких видов ДНК-маркеров как SSR и SNP. Полученная генетическая карта будет служить основой для локализации хозяйственно-ценных признаков в геноме и в дальнейшем будет насыщаться новыми маркерами.

В результате проведения исследований по генетическому разнообразию сортов красной смородины с помощью SSR маркеров был изучен полиморфизм 74 сортов коллекции ВНИИСПК, в которую входят сорта как отечественной, так и зарубежной селекции по 14 микросателлитным локусам. По полученным данным создана база данных, на которую получено Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2024620177. Также удалось выявить уникальные и редкие аллели, уникальные сочетания аллелей на основании которых были составлены генетические паспорта 18 сортов красной смородины. Генетические паспорта имеют важное значение для установления сортовой принадлежности, что позволит решать системные проблемы с селекции, питомниководстве и в промышленном садоводстве.

На основе полученных данных по полиморфизму микросателлитных локусов построена дендрограмма сходства для 73 сортообразцов красной

смородины. Далее по поставленным задачам было изучено генетическое сходство сортов красной смородины, но уже при помощи SNP-маркеров.

Проведена первая масштабная работа по изучению генетического разнообразия смородины красной методом высокопроизводительного генотипирования (GBS) в сочетании с анализом родословных на основе выявленных SNP-маркеров. Сравнивая данные микросателлитных локусов и GBS анализа можно отметить, что в целом данные совпадают и взаимоподтверждаются – практически у всех групп сортов с высокой бутстреп-поддержкой так же объединились в кластеры при проведении GBS анализа.

Таким образом, в наших исследованиях показано, что большинство сортов красной смородины имеют высокую степень генетического сходства, но одновременно было выявлено несколько генетически отличных сортов. Последние были результатом межвидовой гибридизации. Следовательно, существует потенциал для значительного расширения генетического разнообразия красной смородины и применения межвидовых скрещиваний для дальнейшего изучения и использования в селекции.

Подводя итог проделанной научной работы, можно сделать вывод, что поставленные задачи были выполнены в полном объеме. Подчеркивая в очередной раз актуальность, хотелось бы отметить, что до получения результатов выполняемой работы, культура красной смородины была генетически изучена сравнительно мало (как правило, красная смородина изучалась совместно с черной смородиной и крыжовником). Полученные результаты послужат основой для развития дальнейших исследований данной культуры. В частности, послужат основой для поиска и локализации хозяйственно-полезных признаков при помощи GWAS и QTL анализа.

ВЫВОДЫ

1. В результате генотипирования сортов смородины красной по 14 микросателлитным локусам были выявлены уникальные и редкие аллели и уникальные сочетания аллелей, на основе которых удалось идентифицировать практически все генотипы.
2. Создана и выложена в открытом доступе база данных полиморфизма 14 микросателлитных локусов 74 сортообразцов красной смородины биоресурсной коллекции ВНИИСПК.
3. Составлены генетические паспорта 18 сортов красной смородины.
4. На основе SSR спектров построена дендрограмма сходства для 73 сортообразцов красной смородины. Не наблюдается крупных кластеров с хорошей бутстреп поддержкой. *R. multiflorum* формирует отдельную ветвь. Из 15 групп с высокой бутстреп-поддержкой в 6 наблюдается явное родство генотипов по данным родословных (общие сорта в первом или втором поколении предков). При этом у ряда сгруппировавшихся вместе сортов родословные неизвестны (не известен хотя бы один или оба родителя).
5. Проведена первая масштабная работа по изучению генетического разнообразия смородины красной методом высокопроизводительного генотипирования (GBS) в сочетании с анализом родословных на основе выявленных SNP-маркеров. Admixture анализ GBS-данных выборки сортов красной смородины выявил 6 кластеров. Внутри кластеров большинство образцов связаны родословной. Предположительно, кластеризация отражает родство с *R. petraeum* (2), *R. rubrum* (3), *R. vulgare var macrocarpum* (4), *R. multiflorum* (5), *R. vulgare* (6) и *Jonkheer van Tets* (1).
6. Анализ многомерного масштабирования (MDS) показал, что старые сорта, полученные от межвидовых скрещиваний Gondouin (*R. petraeum* × *R. vulgare*) и Rote Hollandische (*R. petraeum* × *R. rubrum*), Rote Spatlese (потомок *R. petraeum* F₂ и *R. multiflorum* F₁) генетически значительно отличаются от других генотипов. Следовательно, существует потенциал для расширения

генетического разнообразия красной смородины за счёт применения межвидовых скрещиваний.

7. В результате исследований составлена первая в мире генетическая карта смородины красной с применением микросателлитных и SNP ДНК-маркеров

РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Генетическая карта – основа для локализации хозяйственно-ценных признаков в геноме и разработки ДНК-маркеров для нужд селекции.
2. Разработанная методическая база может использоваться для ДНК-идентификации сортов, менеджмента генетических коллекций.
3. ДНК-паспорта сортов рекомендуется использовать для уточнения сортовой принадлежности, защиты авторских прав.
4. Знания о генетическом разнообразии сортов могут быть использованы для подбора родительских пар для дальнейшей селекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев Ю.И. Генетический анализ количественных признаков растений / Ю.И. Авдеев // Успехи современного естествознания. – 2010. – №. 2. – С. 87-88.
2. Азарин К.В. ДНК маркеры в селекции растений: учебное пособие / К.В. Азарин, Н.В. Маркин, В.С. Лотник, А.В. Усатов. – Ростов-на-Дону: Южный федеральный университет, 2012. – 148 с. – EDN QLCYZL
3. Аладина О.Н. Смородина: пособие для садоводов-любителей / О.Н. Аладина // М.: Издательство «Ниола-Пресс», 2007. – 256 с.
4. Алтухов Ю.П. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике / Ю.П. Алтухов, Е.А. Салменкова // Генетика. – 2002. – Т. 38. – №. 9. – С. 1173-1195.
5. Антонова О.Ю. Генетическое разнообразие сортов картофеля российской селекции и стран ближнего зарубежья по данным полиморфизма SSR-локусов и маркеров R-генов устойчивости / О.Ю. Антонова, Н.А. Швачко, Л.Ю. Новикова, О.Ю. Шувалов, Л.И. Костина, Н.С. Клименко, Т.А. Гавриленко // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2016. – Т. 20. – №. 5. – С. 596-606.
<https://doi.org/10.18699/VJ16.181>
6. Асманова А.З. Использование сока из ягод красной смородины в производстве мармелада // А.З. Асманова, Л.М. Сабитова, И.И. Багаутдинов / Пищевые технологии будущего: инновации в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции: сб. ст. II межд. науч.-практ. конф. в рамках межд. науч-практ. форума, посвященного Дню Хлеба и соли (Саратов, 24–25 мар. 2021 года). – Саратов: ООО "Центр социальных агроинноваций СГАУ". – 2021. – С. 208-212. – EDN PVCRWP

7. Баянова Л.В. Селекционная оценка исходных форм красной смородины / Л.В. Баянова, О.Д. Голяева // Генетика и селекция растений: крат. тез. докл. к науч. конф. – Орел: ВНИИСПК. – 1999.
8. Березкин, А.Н. Развитие нормативно-правовой базы в области селекции и семеноводства / А.Н. Березкин, М.Ю. Чередниченко, А.М. Малько // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2015. – №. 54. – С. 381-387.
9. Бирюкова В.А. ДНК-маркеры в селекции картофеля / В.А. Бирюкова, В.С. Зайцев, Э.Е. Хавкин, Л.М. Хромова, И.А. Шилов // Достижения науки и техники АПК. – 2003. – №. 10. – С. 38-41.
10. Боронникова С.В. Молекулярное маркирование и генетическая паспортизация ресурсных и редких видов растений с целью оптимизации сохранения их генофондов / С.В. Боронникова // Аграрный вестник Урала. – 2009. – №. 2. – С. 57-59.
11. Браун Т.А. Геномы / Т.А. Браун // Москва: Институт компьютерных исследований (пер. с англ. Ижевск: институт компьютерных исследований), 2011. – 874 с.
12. Воронова Н.В. Barcoding of life: Беларусь–участник глобальной инициативы по ДНК-штрихкодированию жизни / Н.В. Воронова, С.В. Ризевский, В.П. Курченко, С.В. Буга // Труды белорусского государственного университета. Физиологические, биохимические и молекулярные основы функционирования биосистем. 2014. - Т. 9, ч. 1. - С. 167-171.
13. Гавриленко Т.А. Номенклатурные стандарты современных российских сортов картофеля, хранящиеся в гербарии ВИР (WIR): новые подходы к регистрации сортового генофонда в генбанках / Т.А. Гавриленко, И.Г. Чухина // Биотехнология и селекция растений. – 2021. – Т. 3. – №. 3. – С. 6-17.

14. Голяева О.Д. Основные итоги селекции красной смородины во ВНИИСПК / О.Д. Голяева, О.В. Панфилова // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2020. – Т. 7. – №. 1-2. – С. 49-51.
15. Голяева О.Д. Приоритетные направления и совершенствование сортимента смородины красной / О.Д. Голяева // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2014. – С. 212-223. – EDN UQEZLN
16. Голяева О.Д. Результаты 30-летней селекционной работы по красной смородине во Всероссийском НИИ селекции плодовых культур / О.Д. Голяева // Современное садоводство – Contemporary horticulture. – 2015. – № 2. – С. 54-68.
17. Голяева О.Д. Состояние сортимента смородины красной и его улучшение / О.Д. Голяева // Современные тенденции устойчивого развития ягодоводства России (смородина, крыжовник). – 2018. – Т. 1. – 35 с.
18. Голяева О.Д. Состояние сортимента смородины красной и перспективы его улучшения / О.Д. Голяева // Достижения науки и техники АПК. – 2010. – №. 4. – С. 13-15.
19. Горбунов А.Б. Интродукция нетрадиционных плодовых, ягодных и овощных растений в Западной Сибири / Горбунов А.Б., Симагин В.С., Фотев Ю.В., Боярских И.Г., Снакина Т.И., Локтева А.В., Белоусова, В.П. // Интродукция нетрадиционных плодовых, ягодных и овощных растений в Западной Сибири. – 2013. – С. 128-137. – EDN VJOIRZ
20. Гостимский С.А. Использование молекулярных маркеров для анализа генома растений / С.А. Гостимский, З.Г. Кокаева, В.К. Боброва // Генетика. – 1999. – Т. 35. – №. 11. – С. 1538-1549.
21. Гусева Н.П. Современные методы секвенирования ДНК (обзор) / Н.П., Н.А. Шарапова, А.В. Черкасов // Проблемы особо опасных инфекций. – 2014. – №. 2. – С. 73-79.

22. Должикова М.А. Генетическая паспортизация сортов смородины красной (*Ribes rubrum*) селекции ВНИИСПК / М.А. Должикова, А.А. Павленко // Селекция и сорторазведение садовых культур. – 2021. – Т. 8, № 1-2. – С. 26-30. – EDN CSADHW. <https://doi.org/10.24411/2500-0454-2021-10108>
23. Должикова М.А. Изучение полиморфизма микросателлитных локусов сортов смородины красной *Ribes rubrum* / М.А. Должикова, А.А. Павленко, А.В. Пикунова, О.Д. Голяева // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2021. – № 4. – С. 20-23. – EDN: IGZZAT. – <https://doi.org/10.30850/vrsn/2021/4/20-23>
24. Жученко А. А. Рекомбинация в эволюции и селекции / А.А. Жученко, А.Б. Король // Наука, 1985.
25. Жученко А.А. Экологическая генетика культурных растений и проблемы агросферы (теория и практика): монография // А.А. Жученко. – Агрорус, 2004.
26. Зеленцов С.В. Полиплоидная рекомбинация генома как фактор формообразования у высших растений / С.В. Зеленцов // Исследовано в России. – 2002. – Т. 5. – С. 35-35.
27. Календарь Р.Н. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение / Р.Н. Календарь, В.И. Глазко // Физиология и биохимия культурных растений. – 2002. – Т. 34. – №. 4. – С. 279-296.
28. Калько Г.В. ДНК-маркеры для оценки генетических ресурсов ели и сосны / Г.В. Калько // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. – 2015. – №. 4. – С. 19-34.
29. Картель Н.А. Молекулярные маркеры в изучении хозяйственно-ценных признаков сельскохозяйственных культур / Н.А. Картель, С.В. Малышев, О.Ю. Урбанович, А.А. Хацкевич // Молекулярная и прикладная генетика. – 2009. – Т. 9. – С. 19-27.

- 30.Клименков Ф.И. Финансово-экономические обоснования по основным нововведениям федерального закона «О семеноводстве» № 454-ФЗ от 30 декабря 2021 г. / Ф.И. Клименков, С.М. Градсков, Н.П. Кузьмина, Л.П. Иванова, И.Н. Клименкова // Московский экономический журнал. – 2022. – №. 10. – С. 330-344.
- 31.Князев С.Д. Селекция смородины черной на современном этапе / С.Д. Князев, Т.П. Огольцова – Орел: Изд-во Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур. – 2004. – Т. 238.
- 32.Ковешникова Е.Ю. Формирование сортимента ягодных культур для современных технологий возделывания / Е.Ю. Ковешникова, Д.М. Брыксин, О.С. Родюкова, Н.В. Хромов, В.В. Ламонов, Т.В. Носкова, Д.А. Черенков // Достижения науки и техники АПК. – 2009. – №. 2. – С. 31-33.
- 33.Коломыцева А.С. Паспортизация сортов сои с использованием SSR-локусов ДНК / А.С. Коломыцева, С.А. Рамазанова // Актуальные вопросы биологии, селекции, технологии возделывания и переработки масличных и других технических культур. – 2019. – С. 85-88.
- 34.Коробкова Т.С. К вопросу видовой идентификации рода *Ribes* L. в Якутии / Т.С. Коробкова // Региональные геосистемы. – 2011. – Т. 15. – №. 9-2 (104). – С. 47-50.
- 35.Коробкова Т.С. Красная смородина в Якутии: (систематика, география, изменчивость, интродукция): монография / Т.С. Коробкова, С.М. Сабарайкина, В.Н. Сорокопудов. – Белгород: Изд-во БелГУ, 2008. – 175 с.
- 36.Королькова А.П. Стимулирование развития селекции и семеноводства сельскохозяйственных культур: отечественный и зарубежный опыт: аналитический обзор / А.П. Королькова, В.Н. Кузьмин, Т.Е.

- Маринченко А.В. Горячева, ФГБНУ «Росинформагротех». – Москва», 2020. – 124 с. – ISBN 978-5-7367-1565-7. – EDN [HRPGRI](#)
37. Кочерина Н.В. Программное обеспечение для генетического картирования и анализа ассоциаций маркер/признак / Н.В. Кочерина, Ю.В. Чесноков // Овощи России. – 2016. – №. 1. – С. 3-9. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2016-1-3-9>
38. Левгерова Н.С. Технологическая характеристика сортов смородины красной и перспективы их использования в качестве сырья для переработки / Н.С. Левгерова, О.Д. Голяева, И.А. Сидорова, // Совершенствование сортимента и технологий возделывания плодовых и ягодных культур: матер. межд. науч.-практич. конф. Орел: ВНИИСПК. – 2010. – С. 119-122.
39. Макаркина М.А. Биохимическая оценка сортов и гибридов красной смородины в связи с их использованием в селекции и производстве: дис. ...канд. с-х. наук / Макаркина Маргарита Алексеевна. – Орел, 2000. 198 с.
40. Макаркина М.А. Биохимическая оценка сортов некоторых плодовых и ягодных культур селекции ВНИИСПК / М.А. Макаркина, А.Р. Павел, О.А. Ветрова // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. – 2020. – №. 4. – С. 18-21. – EDN [USLVQA](#) <https://10.30850/vrsn/2020/4/18-21>
41. Макаркина М.А. Изучение содержания каротиноидов в плодах ягодных культур / М.А. Макаркина, О.А. Ветрова, Н.И. Богомолова // Садоводство и виноградарство. – 2023. – №. 5. – Р. 49-55. <https://doi.org/10.31676/0235-2591-2023-5-49-55>
42. Макаркина М.А. Селекция смородины красной *Ribes rubrum* L. на улучшенный химический состав ягод / М.А. Макаркина, О.Д. Голяева // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – №. 3. – С. 18-27.

43. Матвеева Т.В. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений / Т.В. Матвеева, О.А. Павлова, Д.И. Богомаз, Л.А. Демкович, А.Е. Лутова // Экологическая генетика. – 2011. – Т. 9. – №. 1. – С. 32-43.
44. Межнина О.А. Анализ вариабельности микросателлитных локусов у представителей рода смородины (*Ribes L.*), выращиваемых в Беларуси / О.А. Межнина, О.Ю. Урбанович // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биологических наук. – 2017. – №. 3. – С. 45-54.
45. Межнина О.А. Оценка генетического разнообразия и разработка методов ДНК-идентификации сортов и представителей видов ягодных культур *Fragaria L.* и *Ribes L.*: автореф. дис. ... канд. б.н. / Межнина Ольга Анатольевна. – Беларусь, 2017. – 22 с.
46. Мухина Ж.М. Эффективность методов молекулярного маркирования в селекции, семеноводстве сельскохозяйственных культур и для изучения биоразнообразия растительных ресурсов: автореф. дис. ... докт. биол. наук: 06.01.05 / Мухина Жанна Михайловна. – Краснодар, 2012. – 47 с.
47. Новикова И.М. Оценка качества ягод красной смородины как источника БАВ / И.М. Новикова, О.М. Блинникова, Т.С. Блохина // Наука и Образование. – 2022. – Т. 5. – №. 3.
48. Огольцова Т.П. Центры происхождения, эволюции и систематики рода *Ribes L.* / Т.П. Огольцова // Помология. Том IV. Смородина, крыжовник: под ред. Седова Е.Н. – Орёл: ВНИИСПК, 2009. – С. 7-15.
49. Омашева М.Е. Молекулярно-генетическая паспортизация сортов яблони: научно-методические рекомендации / М.Е. Омашева, А.С. Пожарский, Б.Б. Смайлов, Н.Н. Галиакпаров. – Алматы, 2017. – 50 с.
50. Осипова З.Ф. Сорта плодовых и ягодных культур, рекомендованные для переработки на различные виды консервов / З.Ф. Осипова, Г.Г.

- Хакулова, Л.А. Шапенкова // Селекция и сорторазведение садовых культур. – Орел. – 1995. – С. 274-281.
51. Павловская Н.Е. Молекулярные маркеры в решении сохранения биологического разнообразия и паспортизации сортов сельскохозяйственных культур (часть 1) / Н.Е. Павловская, И.Н. Гагарина // Вестник аграрной науки. – 2007. – Т. 7. – №. 4. – С. 30-32.
52. Пикунова А.В. Генетическая карта смородины красной (*Ribes rubrum* L.), построенная с применением SSR и SNP ДНК-маркеров / А.В. Пикунова, С.В. Горюнова, Д.В. Горюнов, М.А. Должикова, О.Д. Голяева // Генетика. – 2020. – Т. 56. – №. 11. – С. 1340-1344.
53. Пикунова А.В. Исследование генома с применением ДНК-маркеров у смородины / А.В. Пикунова, С.Д. Князев, О.Д. Голяева, А.Ю. Бахотская, О.В. Калинина // Генетика. – 2019. – Т. 55. – №. 9. – С. 998-1010.
54. Пикунова А.В. К вопросу об идентификации генотипов: полиморфизм микросателлитных локусов смородины чёрной (*Ribes nigrum*) и смородины красной (*Ribes rubrum*): научно-методические рекомендации / А.В. Пикунова, М.А. Должикова, А.А. Толпекина. – Орел: Всероссийский научно-исследовательский институт селекции плодовых культур, 2020. – 36 с. – EDN [WWTWER](#)
55. Пикунова А.В. Полиморфизм микросателлитных локусов красной смородины (*Ribes rubrum* L.) генофонда ВНИИСПК, Орел / А.В. Пикунова, М.А. Должикова, О.Д. Голяева // VII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров, посвященный 100-летию кафедры генетики СПбГУ, и ассоциированные симпозиумы: сборник тезисов Международного Конгресса, Санкт-Петербург, 18–22 июня 2019 года. – Санкт-Петербург: ООО "Издательство ВВМ", 2019. – С. 1111. – EDN [BSMROG](#)

56. Пикунова А.В. Полиморфизм микросателлитных локусов у сортов черной смородины (*Ribes nigrum* L.) из коллекции ВНИИСПК / А.В. Пикунова, С.Д. Князев, А.Ю. Бахотская, А.А. Кочумова // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – №. 1. – С. 46-54. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2015.1.46rus>
57. Пикунова А.В. Применение RAPD-анализа для изучения генетического полиморфизма и филогенетических связей у представителей рода *Ribes* L. / А.В. Пикунова, Е.В. Мартиросян, С.Д. Князев, Н.Н. Рыжова // Экологическая генетика. – 2011. – Т. 9. – №. 2. – С. 34-44.
58. Потокина Е.К. Современные методы геномного анализа в исследованиях генетики количественных признаков у растений (обзор) / Е.К. Потокина, Ю.В. Чесноков // Сельскохозяйственная биология. – 2005. – Т. 40. – №. 3. – С. 3-18. – EDN [PGCKJR](#)
59. Пшеничникова Т.А. Картирование локусов количественных признаков (QTL), ассоциированных с показателями качества зерна мягкой пшеницы, выращенного в различных условиях среды / Т.А. Пшеничникова, М.Ф. Ермакова, А.К. Чистякова, Л.В. Щукина, Е.В. Березовская, У. Лохвассер, А. Бёрнер // Генетика. – 2008. – Т. 44. – №. 1. – С. 90-101.
60. Родюкова О.С. Продуктивность сортов смородины красной / О.С. Родюкова // Труды Всероссийского научно-исследовательского института садоводства им. И.В. Мичурина. – 2005. – С. 438-447.
61. Розанова М.А. Ягодоведение и ягодоводство / М.А. Розанова. – Ленинградское отделение Сельхозгиза, 1935.
62. Рыбаков Д.А. Номенклатурные стандарты и генетические паспорта сортов картофеля селекции Всероссийского научно-исследовательского института картофеля им. АГ Лорха / Д.А. Рыбаков, О.Ю. Антонова, И.Г. Чухина, Н.А. Фомина, Н.С. Клименко, В.В. Желтова, Т.А. Гавриленко, // Биотехнология и селекция растений. –

2021. – Т. 3. – №. 4. – С. 5-52 <https://doi.org/10.30901/2658-6266-2020-4-01>
63. Салина Е.С. Лучшие сорта плодовых и ягодных культур селекции ВНИИСПК для переработки (методические рекомендации) / Е.С. Салина, Н.С. Левгерова, М.А. Макаркина – Litres, 2023.
64. Салина Е.С. Химико-технологическая оценка сортообразцов смородины красной селекции Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур для желе / Е.С. Салина, Н.С. Левгерова, И.А. Сидорова, О.Д. Голяева // Садоводство и виноградарство. – 2020. – №. 6. – Р. 46-55. – EDN [SWIFZX https://doi.org/10.31676/0235-2591-2020-6-46-55](https://doi.org/10.31676/0235-2591-2020-6-46-55)
65. Смарагдов М.Г. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции / М.Г. Смарагдов // Генетика. – 2009. – Т. 45. – №. 6. – С. 725-728. – EDN [KMLMWR](https://doi.org/10.31676/0235-2591-2020-6-46-55)
66. Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения / Г.Е. Сулимова // Успехи современной биологии. – 2004. – Т. 124. – №. 3. – С. 260-271. – EDN [OXMHRV](https://doi.org/10.31676/0235-2591-2020-6-46-55)
67. Супрун И.И. Методы молекулярного ДНК-маркирования в оценке генетического разнообразия косточковых культур / И.И. Супрун, С.В. Токмаков, И.В. Степанов, Е.В. Лободина // Научные труды Северо-Кавказского федерального научного центра садоводства, виноградарства, виноделия. – 2019. – Т. 23. – С. 31-39. <https://doi.org/10.30679/2587-9847-2019-23-31-39>
68. Урбанович О.Ю. ДНК-технологии в растениеводстве: возможности и перспективы / О.Ю. Урбанович // Наука и инновации. – 2006. – №. 9 (43). – С. 32-36.
69. Федеральный закон «О семеноводстве» от 17.12.1997 N 149-ФЗ (последняя редакция). Статья 21. Заготовка, обработка, хранение и

- использование семян [Электронный ресурс]. Доступ https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_405425/ (дата обращения: 19.01.2024)
- 70.Хавкин Э.Е. Молекулярная селекция растений: ДНК-технологии создания новых сортов сельскохозяйственных культур / Е.Э. Хавкин // Сельскохозяйственная биология. – 2003. – Т. 38. – №. 3. – С. 26-41. – EDN PGALJX
- 71.Хавкин Э.Е. Молекулярные маркеры в растениеводстве / Е.Э. Хавкин // Сельскохозяйственная биология. – 1997. – Т. 5. – С. 3-21.
- 72.Хлесткина Е.К. SNP-маркеры: методы анализа, способы разработки и сравнительная характеристика на примере мягкой пшеницы // Е.К. Хлесткина, Е.А. Салина // Генетика. – 2006. – V. 42. – №. 6. – P. 725-736.
- 73.Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции / Е.К. Хлесткина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2015. – Т. 17. – №. 4/2. – С. 1044-1054.
- 74.Хлесткина Е.К. Молекулярные методы анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших растений / Е.К. Хлесткина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. – Т. 15. – №. 4. – С. 757-768.
- 75.Чесноков Ю.В. Ассоциативное картирование у растений (обзор) / Ю.В. Чесноков, А.М. Артемьева // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – №. 5. – С. 3-16.
- 76.Чесноков Ю.В. Генетические ресурсы растений и современные методы ДНК-типирования / Ю.В. Чесноков // СПб.: ВИР. – 2007. – 80 с.
- 77.Чесноков Ю.В. Молекулярно-генетические маркеры и их использование в предселекционных исследованиях: монография / Ю.В. Чесноков. – Санкт-Петербург: Агрофизический научно-исследовательский институт РАСХН, 2013. – С.116

- 78.Чесноков Ю.В. Молекулярные маркеры в популяционной генетике и селекции культурных растений / Ю.В. Чесноков, Н.В. Кочерина, В.М. Косолапов, 2019. EDN JBRUAU
https://doi.org/10.33814/monography_1614
- 79.Чесноков Ю.В. Нативный полиморфизм двойных спиралей ДНК / Ю.В. Чесноков // Овощи России. – 2020. – № 6. – Р. 51-57. – EDN YUQVSN
<https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-6-51-57>
- 80.Чесноков Ю.В. Некоторые аспекты построения генетических карт / Ю.В. Чесноков // Овощи России. – 2018. – №. 2. – С. 15-20.
- 81.Шитт П.Г. Учение о росте и развитии плодовых и ягодных растений / П.Г. Шитт. – Москва: Сельхозгиз. – 1958. – С. 186-1.
- 82.Abe A., Genome sequencing reveals agronomically important loci in rice using MutMap / A. Abe, S. Kosugi, K. Yoshida, S. Natsume, H. Takagi, H. Kanzaki, R. Terauchi // Nature biotechnology. – 2012. – V. 30. – №. 2. – P. 174-178. <https://doi.org/10.1038/nbt.2095>
- 83.Abecasis G.R. Linkage disequilibrium: ancient history drives the new genetics / G.R. Abecasis, D. Ghosh, T.E. Nichols // Human heredity. – 2005. – V. 59. – №. 2. – P. 118-124. <https://doi.org/10.1159/000085226>
- 84.Abreu I.N. Quantitative trait loci mapping of polyphenol metabolites in blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) / I.N. Abreu, R.M. Brennan, E.N. Kanichukattu, D. Stewart, R.D. Hancock, G.J. McDougall, C.A. Hackett // Metabolomics. – 2020. – V. 16. – P. 1-23. <https://doi.org/10.1007/s11306-020-1647-6>
- 85.Akkaya M.S. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean / M.S. Akkaya, A.A. Bhagwat, P.B. Cregan // Genetics. – 1992. – V. 132. – №. 4. – P. 1131-1139. <https://doi.org/10.1093/genetics/132.4.1131>
- 86.Ali F. Mobile genomic element diversity in world collection of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) panel using iPBS-retrotransposon markers / F. Ali, A. Yilmaz, M.A. Nadeem, E. Habyarimana, I. Subaşı, M.A. Nawaz, F.S.

- Baloch // PloS one. – 2019. – V. 14. – №. 2. – e0211985 p. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211985>
87. Almasly L. Challenges for genetic analysis in the 21st century: localizing and characterizing genes for common complex diseases and their quantitative risk factors / L. Almasly, J. Blangero // GeneScreen. – 2000. – V. 1. – №. 2. – P. 113-116. <https://doi.org/10.1046/j.1466-9218.2000.00033.x>
88. Antonius K. Development of the Northern European *Ribes* core collection based on a microsatellite (SSR) marker diversity analysis / K. Antonius, S. Karhu, H. Kaldmäe, G. Lacis, R. Rugenius, D. Baniulis, K. Järve // Plant Genetic Resources. – 2012. – V. 10. – №. 1. – P. 70-73. <https://doi.org/10.1017/S1479262111000980>
89. Arcade A. BioMercator: integrating genetic maps and QTL towards discovery of candidate genes / A. Arcade, A. Labourdette, M. Falque, B. Mangin, F. Chardon, A. Charcosset, J. Joets // Bioinformatics. – 2004. – V. 20. – №. 14. – P. 2324-2326. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth230>
90. Babu K.N. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) and derived techniques / K.N. Babu, T.E. Sheeja, D. Minoo, M.K. Rajesh, K. Samsudeen, E.J. Suraby, I.P.V. Kumar // Molecular Plant Taxonomy: Methods and Protocols. – 2021. – C. 219-247. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0997-2_13
91. Baenziger P.S. Improving lives: 50 years of crop breeding, genetics, and cytology (C-1) / P.S. Baenziger, W.K. Russell, G.L. Graef, B.T. Campbell // Crop science. – 2006. – V. 46. – №. 5. – P. 2230-2244. <https://doi.org/10.2135/cropsci2005.11.0404gas>
92. Baird N.A. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers / N.A. Baird, P.D. Etter, T.S. Atwood, M.C. Currey, A.L. Shiver, Z.A. Lewis, E.A. Johnson. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers // PloS one. – 2008. – V. 3. – №. 10. – e3376 p. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003376>

93. Barker G.L.A. A genome-wide analysis of single nucleotide polymorphism diversity in the world's major cereal crops / G.L.A. Barker, K.J. Edwards // *Plant Biotechnology Journal*. – 2009. – V. 7. – №. 4. – P. 318-325. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2009.00412.x>
94. Begna T. Genetic mapping in crop plants / T. Begna, H. Yesuf, M. Abdurezake, G. Eshetu // *Open Journal of Plant Science*. – 2021. – V. 6. – №. 1. – P. 019-026. <https://dx.doi.org/10.17352/ojps.000028>
95. Berger A.A taxonomic review of currants and gooseberries / A.A. Berger // *Bulletin of the New York State Agricultural Experimental Station*. – 1924. – №. 109.
96. Berk S. Role of maturity stages on phenolic compounds and organic acids contents in red currant fruits / S. Berk, M. Gundogdu, S. Tuna, A. Tas // *International Journal of Fruit Science*. – 2020. – V. 20. – №. sup2. – P. S1054-S1071. <https://doi.org/10.1080/15538362.2020.1774476>
97. Blouin M.S. Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness / M.S. Blouin, M. Parsons, V. Lacaille, S. Lotz // *Molecular ecology*. – 1996. – V. 5. – №. 3. – P. 393-401. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1996.00094.x>
98. Bradbury P.J. TASSEL: Software for association mapping of complex traits in diverse samples / P.J. Bradbury, Z. Zhang, D.E. Kroon, T.M. Casstevens, Y. Ramdoss, E.S. Buckler // *Bioinform. Oxf. Engl.* – 2007. – № 23. – P. 2633–2635. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm308>
99. Brennan R. Development and characterization of SSR markers in *Ribes* species / R. Brennan, L. Jorgensen, M. Woodhead, J. Russell // *Molecular Ecology Notes*. – 2002. – V.2. – №3. – P.327-330. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00233.x>
100. Brennan R. Improving fruit quality in *Rubus* and *Ribes* through breeding R. Brennan, J. Graham // *Functional Plant Science and Biotechnology*. – 2009. – V. 3. – №. 1. – P. 22-29.

101. Brennan R. The development of a genetic linkage map of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) and the identification of regions associated with key fruit quality and agronomic traits / R. Brennan, L. Jorgensen, C. Hackett, M. Woodhead, S. Gordon, J. Russell // *Euphytica*. – 2008. – V. 161. – P. 19-34. <https://doi.org/10.1007/s10681-007-9412-8/>
102. Brickell C.D. International code of nomenclature for cultivated plants (ICNCP or cultivated plant code) / C.D. Brickell, C. Alexander, J.J. Cubey, J.C. David, M.H.A. Hoffman, A.C. Leslie, X. Jin // *Scripta horticultrae* 18. – 2016.
103. Broman K.W. R/qtl: QTL mapping in experimental crosses / K.W. Broman, H. Wu, S. Sen, G.A. Churchill // *Bioinformatics*. – 2003. – V. 19. – №. 7. – P. 889-890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg112>
104. Brookes A.J. The essence of SNPs / A.J. Brookes // *Gene*. – 1999. – V. 234. – №. 2. – P. 177-186. [https://doi.org/10.1016/S0378-1119\(99\)00219-X/](https://doi.org/10.1016/S0378-1119(99)00219-X/)
105. Cao X. A novel random amplified polymorphic DNA-based strategy for genetic diversity analysis and identification of tomatoes / X. Cao, Z. Wu, R. Zhou, F.L. Jiang, Z.E. Yang // *Genet. Mol. Res.* – 2015. – V. 14. – P. 1650-1661. <http://dx.doi.org/10.4238/2015>
106. Cavanna M. Microsatellite-based evaluation of *Ribes* spp. germplasm // *Genome*. – 2009. – V. 52. – №. 10. – P. 839-848. <https://doi.org/10.1139/G09-057>
107. Chapman N.H. Linkage disequilibrium mapping the role of population history, size, and structure / N.H. Chapman, E.A. Thompson // *Advances in genetics*. – 2001. – P. 413-437. [https://doi.org/10.1016/S0065-2660\(01\)42034-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2660(01)42034-7)
108. Chiche J. Genome size, heterochromatin organisation, and ribosomal gene mapping in four species of *Ribes* / J. Chiche, S.C. Brown, J.C. Leclerc,

- S. Siljak-Yakovlev // Canadian journal of botany. – 2003. – V. 81. – №. 11. – P. 1049-1057. <https://doi.org/10.1139/b03-088>
109. Cipriani G. The SSR-based molecular profile of 1005 grapevine (*Vitis vinifera* L.) accessions uncovers new synonymy and parentages, and reveals a large admixture amongst varieties of different geographic origin / G. Cipriani, A. Spadotto, I. Jurman, G. Di Gaspero, M. Crespan, S. Meneghetti, R. Testolin // Theoretical and Applied Genetics. – 2010. – V. 121. – P. 1569-1585.
110. Collard B.C.Y. An introduction to markers, Quantitative Trait Loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts / B.C.Y. Collard, M.Z.Z. Jahufer, J.B. Brouwer, E.C.K. Pang // Euphytica. – 2005. – V. 142. – P. 169-196. <https://doi.org/10.1007/s10681-005-1681-5>
111. de Mattia F. Chloroplast and nuclear DNA markers to characterize cultivated and spontaneous *Ribes* / F. de Mattia, F. Grassi, S. Imazio, M. Labra // Plant biosystems. – 2008. – V. 142. – №. 2. – P. 204-212. <https://doi.org/10.1080/11263500802150290>
112. Devos K. M. Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers / K.M. Devos, G.J. Bryan, A.J. Collins, P. Stephenson, M.D. Gale // Theoretical and Applied Genetics. – 1995. – V.90. – P. 247-252. <https://doi.org/10.1007/BF00222209>
113. Devoto M. Genetic mapping of quantitative trait loci for disease-related phenotypes / M. Devoto, M. Falchi // Quantitative Trait Loci (QTL) Methods and Protocols. – 2012. – P. 281-311. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-785-9_15
114. Doyle J.J. Isolation of plant DNA from fresh tissue / J.J. Doyle, J.L. Doyle // Focus. – 1990. – V. 12. – P. 13-15.

115. Duran C. Genetic maps and the use of synteny / C. Duran, D. Edwards, J. Batley // *Plant genomics: methods and protocols*. – 2009. – P. 41-55. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-427-8_3
116. Dhingani R.M. Introduction to QTL mapping in plants / R.M. Dhingani, V.V. Umrana, R.S. Tomar, M.V. Parakhia, B. Golakiya // *Ann Plant Sci*. – 2015. – V. 4. – №. 04. – P. 1072-1079.
117. Eathington S.R. Usefulness of Marker-QTL associations in Early Generation Selection / S.R. Eathington, J.W. Dudley, G.K. Rufener // *Crop Science*. – 1997. – V. 37. – №. 6. – P. 1686-1693. <https://doi.org/10.2135/cropsci1997.0011183X003700060002x>
118. Elshire R.J. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species / R.J. Elshire, J.C. Glaubitz, Q. Sun, J.A. Poland, K. Kawamoto, E.S. Buckler, S.E. Mitchell // *PloS one*. – 2011. – V. 6. – №. 5. – P. e19379.
119. Flint-Garcia S.A. Structure of linkage disequilibrium in plants / S.A. Flint-Garcia, J.M. Thornsberry, E.S. Buckler // *Annual review of plant biology*. – 2003. – V. 54. – №. 1. – P. 357-374.
120. Ford E.B. Polymorphism / E.B. Ford // *Biological Reviews*. – 1945. – V. 20. – №. 2. – P. 73-88.
121. Fusari C.M. Identification of single nucleotide polymorphisms and analysis of linkage disequilibrium in sunflower elite inbred lines using the candidate gene approach / C.M. Fusari, V.V. Lia, H.E. Hopp, R.A. Heinz, N.B. Paniago // *BMC plant biology*. – 2008. – V. 8. – P. 1-14. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-8-7>
122. Ganal M.W. SNP identification in crop plants / M.W. Ganal, T. Altmann, M.S. Röder // *Current opinion in plant biology*. – 2009. – V. 12. – №. 2. – P. 211-217. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2008.12.009>
123. Gavrilenko T.A. Nomenclatural standards of modern Russian potato cultivars preserved at the VIR herbarium (WIR): A new approach to cultivar

- genepool registration in a genebank / T.A. Gavrilenko, I.G. Chukhina // Plant Biotechnology and Breeding. – 2020 – V. 3. –3. – P. 6-17.
124. Girichev V. SSR fingerprinting of a German *Rubus* collection and pedigree based evaluation on trueness-to-type / V. Girichev, M.V. Hanke, A. Peil, H. Flachowsky // Genetic resources and crop evolution. – 2017. – V. 64. – C. 189-203. <https://doi.org/10.1007/s10722-015-0345-0>
125. Gobert V. Phylogenetic relationships and genetic exchanges between cultivated and wild mints (*Mentha*; *Lamiaceae*) revealed by nucleotide sequences of ncDNA (ITS I, ITS II), cpDNA and genomic fingerprinting (AFLP, ISSR) / V. Gobert, S. Moja, P. Taberlet, M. Wink // Plant Biology. – 2006. – P. 470-485.
126. Gupta P.K. Molecular markers and their applications in wheat breeding / P.K. Gupta, R.K. Varshney, P.C. Sharma, B. Ramesh // Plant breeding. – 1999. – V. 118. – №. 5. – P. 369-390 <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.1999.00401.x>
127. Gupta P.K. Association mapping in plants in the post-GWAS genomics era / P.K. Gupta, P.L. Kulwal, V. Jaiswal //Advances in genetics. – 2019. – V. 104. – P. 75-154.
128. Gyapay G. The 1993–94 Genethon human genetic linkage map / G. Gyapay, J. Morissette, A. Vignal, C. Dib, C. Fizames, P. Millasseau, J. Weissenbach // Plant breeding. – 1999. – V. 118. – №. 5. – P. 369-390 <https://doi.org/10.1046/j.1439-0523.1999.00401.x>
129. Hackett C.A. Multi-environment QTL mapping in blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) using mixed models / C.A. Hackett, J. Russell, L. Jorgensen, S.L. Gordon, R.M. Brennan // Theoretical and Applied Genetics. – 2010. – V. 121. – P. 1483-1488.
130. Hailu G. The Role of Molecular Markers in Crop Improvement and Plant Breeding Programs: A / G. Hailu, Y. Asfere // Agric. J. – 2020. – V. 15. – P. 171-175.

131. Haley C.S., A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers / C.S. Haley, S.A. Knott // *Heredity*. – 1992. – V. 69. – №. 4. – P. 315-324 <https://doi.org/10.1038/hdy.1992.131>
132. Hayes B.J. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps / B.J. Hayes, M.E. Goddard // *Genetics*. – 2001. – V 157. – №. 4. – P. 1819-1829. <https://doi.org/10.1093/genetics/157.4.1819>
133. He J. Genotyping-by-sequencing (GBS), an ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding / J. He, X. Zhao, A. Laroche, Z.X. Lu, H. Liu, Z. Li // *Frontiers in plant science*. – 2014. – V. 5. – P. 484.
134. Hummer K.E. Crop Report / K.E. Hummer, D. Barney – *Currants.Hort-Technol*, 2002. – V. 12. – №. 3. – P. 377-388.
135. Ipek A. Genetic diversity among some currants (*Ribes* spp.) cultivars as assessed by AFLP markers / A. Ipek, E. Barut, H. Gulen, M. Ipek // *Pak. J. Bot.* – 2010. – V. 42. – №. 2. – P. 1009-1012.
136. Jaganathan D. Fine mapping and gene cloning in the post-NGS era: advances and prospects / D. Jaganathan, A. Bohra, M. Thudi, R.K. Varshney // *Theoretical and Applied Genetics*. – 2020. – V. 133. – №. 5. – P. 1791-1810. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03560-w>
137. Janczewski E.D. Monograph of the currants *Ribes* L. / E.D. Janczewski. – *Mem. Soc. Phys. Hist. Nat. Geneve*, 1907. – V. 35. – P. 199-517.
138. Jansen R.C. High resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping / R.C. Jansen, P. Stam // *Genetics*. – 1994. – V. 136. – №. 4. – P. 1447-1455. <https://doi.org/10.1093/genetics/136.4.1447>
139. Jenkins G.I. Environmental regulation of flavonoid biosynthesis / G.I. Jenkins // *Health benefits of organic food: effects of the environment*.

- Wallingford UK: CABI. – 2008. – P. 240-262.
<http://dx.doi.org/10.1079/9781845934590.0240>
140. Kalia R.K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants / R.K. Kalia, M.K. Rai, S. Kalia, R. Singh, A.K. Dhawan // *Euphytica*. – 2011. – V. 177. – №. 3. – P. 309-334.
<https://doi.org/10.1007/s10681-010-0286-9>
141. Keep E. Interspecific hybridization in *Ribes* / E. Keep. – *Genetica*, 1963. – V. 33. – №. 1. – P. 1-23. <https://doi.org/10.1007/BF01725743>
142. Kumar L.S. DNA markers in plant improvement: an overview / L.S. Kumar // *Biotechnology advances*. – 1999. – V. 17. – №. 2-3. – P. 143-182.
143. Landjeva S. Molecular markers: actual and potential contributions to wheat genome characterization and breeding / S. Landjeva, V. Korzun, A. Börner // *Euphytica* – 2007. – V. 156. – P. 271-296.
<https://doi.org/10.1007/s10681-007-9371-0>
144. Lander E.S. Botstein D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps / E.S. Lander, D. Botstein // *Genetics*. – 1989. – T. 121. – №. 1. – C. 185-199.
145. Lanham P.G. Genetic diversity within a secondary gene pool for *Ribes nigrum* L. revealed by RAPD and ISSR markers / P.G. Lanham, A. Korycinska, M. Brennan // *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. – 2000. – V. 75. – №. 4. – P. 371-375.
<https://doi.org/10.1080/14620316.2000.11511253>
146. Larsen B. Population structure, relatedness and ploidy levels in an apple gene bank revealed through genotyping-by-sequencing / B. Larsen, K. Gardner, C. Pedersen, M. Ørgaard, Z. Migicovsky, S. Myles, T.B. Toldam-Andersen // *PLoS One*. – 2018. – V. 13. – №. 8. – P. e0201889. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201889>
147. Li X.-Q. A simplified procedure for verifying and identifying potato cultivars using multiplex PCR / X.-Q. Li, M. Haroon, S. E. Coleman, A.

- Sullivan, M. Singh, L. Ward, S.H. De Boer, T. Zhang, D.J. Donnelly // Canadian Journal of Plant Science. – 2008. – Vol. 88, N 4. – P. 583–592.
148. Li F. Genome-wide association study dissects the genetic architecture of seed weight and seed quality in rapeseed (*Brassica napus* L.) / F. Li, B. Chen, K. Xu, J. Wu, W. Song, I. Bancroft, A. L. Harper, M. Trick, S. Liu, G. Gao, N. Wang, G. Yan, J. Qiao, J. Li, H. Li, X. Xiao, T. Zhang, X. Wu // DNA research. – 2014. – V. 21. – №. 4. – P. 355-367.
149. Lingdi L. In: Flora of China / L. Lingdi, Alexander C // Saxifragacea. Beijing: Science Press, 2001. – 428–452.
150. Mammadov J. SNP markers and their impact on plant breeding / J. Mammadov, R. Aggarwal, R. Buyyarapu, S. Kumpatla // International journal of plant genomics. – 2012. – V. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/728398>
151. Mandal L. Potential applications of molecular markers in plant / L. Mandal, S.K. Verma, S. Sasmal, J. Katara // Curr. Trends Biomed. Eng. Biosci. – 2018. – V. 12. – P. 85-87.
152. Manivannan A. Genotyping by sequencing-based discovery of SNP markers and construction of linkage map from F 5 population of pepper with contrasting powdery mildew resistance trait / A. Manivannan, S. Choi, T.H. Jun, E.Y. Yang, J.H. Kim, E.S. Lee, Y.K. Ahn // BioMed Research International. – 2021. – V. 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/6673010>
153. Mason A.S. SSR genotyping / A.S. Mason // Plant genotyping: methods and protocols. – 2015. – P. 77-89.
154. Mather K. Crossing-over / K. Mather // Biological Reviews – 1938. V.13. – №. 3. – P. 252-292. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1938.tb00516.x>
155. Mazeikiene I. Genetic background of resistance to gall mite in *Ribes* species / I. Mazeikiene, V. Bendokas, D. Baniulis, G. Staniene, D. Juskyte,

- A. Sasnauskas, T. Siksnianas // *Agricultural and Food Science*. – 2017. – V. 26. – №. 2. – P. 111–117. <https://doi.org/10.23986/afsci.59410>
156. Mazeikiene I. Molecular markers linked to resistance to the gall mite in blackcurrant / I. Mazeikiene, V. Bendokas, V. Stanys, T. Siksnianas // *Plant breeding*. – 2012. – V. 131. – №. 6. – P. 762-766.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2012.01995.x>
157. Mei Z. Efficiency of improved RAPD and ISSR markers in assessing genetic diversity and relationships in *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels varieties of China / Z. Mei, C. Zhang, M.A. Khan, Y. Zhu, M. Tania, P. Luo, J. Fu // *Electronic Journal of Biotechnology*. – 2015. – V. 18. – №. 2. – P. 96-102. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2014.12.006>
158. Mohammadi M. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistant wheat heads inoculated with *Fusariumgraminearum* and induced resistance / M. Mohammadi, H. Kazemi // *Plant Science*. – 2002. – V. 162. – №. 4. – P. 491-498.
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00538-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00538-6)
159. Moreno S. The use of RAPD markers for identification of cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) / S. Moreno, Y. Gogorcena, J.M. Ortiz // *Scientia Horticulturae*. – 1995. – V. 62. – №. 4. – P. 237-243.
[https://doi.org/10.1016/0304-4238\(95\)00784-Q/](https://doi.org/10.1016/0304-4238(95)00784-Q/)
160. Nadeem M.A. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing / M.A. Nadeem, M.A. Nawaz, M.Q. Shahid, Y. Doğan, G. Comertpay, M. Yildiz, F.S. Baloch // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. – 2018. – V. 32. – №. 2. – P. 261.
<https://doi.org/10.1080/13102818.2017.1400401>
161. Newell M.A. Population structure and linkage disequilibrium in oat (*Avena sativa* L.): implications for genome-wide association studies / M.A. Newell, D. Cook, N.A. Tinker, J.L. Jannink // *Theoretical and Applied*

- Genetics. – 2011. – V. 122. – P. 623-632. <https://doi.org/10.1007/s00122-010-1474-7>
162. Nordborg M. Next-generation genetics in plants / M. Nordborg, D. Weigel // Nature. – 2008. – V. 456. – №. 7223. – P. 720-723.
163. Ott J. Analysis of human genetic linkage / J. Ott – JHU Press, 1999.
164. O'Brien S.J. Genetic maps: locus maps of complex genomes / S.J. O'Brien // Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press. – 1990. P. 4.92-4.92.
165. Padmakar B. Molecular exploration of guava (*Psidium guajava* L.) genome using SSR and RAPD markers: a step towards establishing linkage map / B. Padmakar, D. Sailaja, C. Aswath // Journal of Horticultural Sciences. – 2015. – V. 10. №. 2. P. 130-135. <https://doi.org/10.24154/jhs.v10i2.118>
166. Palombi M. Comparison between RAPD and SSR molecular markers in detecting genetic variation in kiwifruit (*Actinidia deliciosa* A. Chev) / M. Palombi, C. Damiano // Plant Cell Reports. – 2002. – T. 20. – C. 1061-1066. <https://doi.org/10.1007/s00299-001-0430-z>
167. Palmieri L. Establishment of molecular markers for germplasm management in a worldwide provenance *Ribes* spp. Collection / L. Palmieri, M.S. Grando, M. Sordo, M. Grisenti, S. Martens, L. Giongo // Plant Omics. – 2013. – V. 6. – №. 3. – P. 165-174.
168. Paterson A.H. Genome Mapping in Plants / A.H. Paterson, 1996.
169. Paterson A.H., Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci / A.H. Paterson, Y.R. Lin, Z. Li, K.F. Schertz, J.F. Doebley, S.R. Pinson, J.E. Irvine // Science. – 1995. – V. 269. – №. 5231. – P. 1714-1718. <https://doi.org/10.1126/science.269.5231.1714>
170. Pavlenko A. Use of SSR markers to study genetic polymorphism in members of the *Ribes* L. genus from the VNIISP collection / A. Pavlenko,

- M. Dolzhikova, A. Pikunova, A. Bakhotskaya // E3S Web of Conferences. – 2021. – EDN HOMGIO. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125402009>
171. Phillips R. L. DNA-based markers in plants / R.L. Phillips, I.K. Vasil // Springer Science & Business Media, 2013. – V. 6.
172. Poland J.A. Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach / J.A. Poland, P.J. Brown, M.E. Sorrells, J.L. Jannink // PloS one. – 2012. – V. 7. – №. 2. – P. e32253. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032253>
173. Pikunova A. Plastome Data of Red Currant and Gooseberry Reveal Potential Taxonomical Issues within the *Ribes Genus (Grossulariaceae)* / A. Pikunova, S. Goryunova, O. Golyaeva, M. Dolzhikova, A. Pavlenko, O. Kurashev, D. Goryunov, //Horticulturae. – 2023. – T. 9. – №. 9. – C. 972. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9090972>
174. Pikunova A. Genetic Diversity and Pedigree Analysis of Red Currant Germplasm / A. Pikunova, S. Goryunova, D. Goryunov, O. Golyaeva, M. Dolzhikova, A. Pavlenko // Plants. – 2022. – V. 11. – №. 13. – P. 1623.
175. Pitsioudis A. The effect of long day treatment on fruit quality and production period of red currants (*Ribes rubrum* L.) / A. Pitsioudis, G. Latet, P. Meesters // VIII International *Rubus* and *Ribes* Symposium 585. – 2001. – P. 645-648. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2002.585.106>
176. Plaschke J. Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers / J. Plaschke, M.W. Ganal, M.S. Röder // Theoretical and Applied Genetics. – 1995. – V. 91. – P. 1001-1007. <https://doi.org/10.1007/BF00223912>
177. Premkrishnan B.V. In silico RAPD priming sites in expressed sequences and iSCAR markers for oil palm / B.V. Premkrishnan, V.I. Arunachalam // Comparative and Functional Genomics. – 2012. – V. 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/913709>

178. Rafalski A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics / A. Rafalski // *Curr Opin Plant Biol.* – 2002. – № 5. – P. 94-100. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(02\)00240-6](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(02)00240-6)
179. Rajesh M.K. Application of RAPD markers in hybrid verification in coconut / M.K. Rajesh, B.A. Jerard, P. Preethi // *Crop Breeding and Applied Biotechnology.* – 2014. – V. 14. – P. 36-41. <https://doi.org/10.1590/S1984-70332014000100006>
180. Reddy B.V. Role of molecular based markers methods and their applications in crop improvement / B.V. Reddy, C.C.M. Reddy, A.C. Sekhar, P.C.O. Reddy, P. Rajasekhar, K. Srinivasulu // *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology.* – 2021. – P. 38-54.
181. Rehder A. Manual of cultivated trees and shrubs / A. Rehder, 1949.
182. Reim S. Verifying the parents of the Pillnitzer apple cultivars / S. Reim, H. Flachowsky, M.V. Hanke, A. Peil // XII Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics 814. – 2007. – P. 319-324. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.814.50>
183. Russell J. The use of genotyping by sequencing in blackcurrant (*Ribes nigrum*): developing high-resolution linkage maps in species without reference genome sequences / J. Russell, C. Hackett, P. Hedley, H. Liu, L. Milne, M. Bayer, R. Brennan // *Molecular breeding.* – 2014. – V. 33. – P. 835-849. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9996-8>
184. Russell J.R. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (*Ribes nigrum*) / J.R. Russell, M. Bayer, C. Booth, L. Cardle, C.A. Hackett, P.E. Hedley, R.M. Brennan // *BMC Plant Biology.* – 2011. – V. 11. – №. 1. – P. 1-11. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-147>
185. Schnable P.S. Genetic recombination in plants / P.S. Schnable, A.P. Hsia, B.J. Nikolau // *Current opinion in plant biology.* – 1998. – V. 1. – №. 2. – P. 123-129. [https://doi.org/10.1016/S1369-5266\(98\)80013-7](https://doi.org/10.1016/S1369-5266(98)80013-7)

186. Seaton G. QTL Express: mapping quantitative trait loci in simple and complex pedigrees / G. Seaton, C.S. Haley, S.A. Knott, M. Kearsey, P.M. Visscher // *Bioinformatics*. – 2002. – V. 18. – №. 2. – P. 339-340. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.2.339>
187. Selvakumari E. Application of DNA fingerprinting for plant identification / E. Selvakumari, J. Jenifer, S. Priyadharshini, R. Vinodhini // *JAIR*. – 2017. – T. 5. – №. 10. – C. 149-151.
188. Semagn K. Principles, requirements and prospects of genetic mapping in plants / K. Semagn, A. Bjornstad, M.N. Ndjiondjop // *African Journal of Biotechnology*. – 2006. – V. 5. – №. 25.
189. Serrote C.M.L. Determining the Polymorphism Information Content of a molecular marker / C.M.L. Serrote, L.R.S. Reiniger, K.B. Silva, dos Santos Rabaiolli, C.M. Stefanel // *Gene*. – 2020. – V. 726. – C. 144175. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144175>
190. Serwat M. RAPD and ISSR Polymorphism in the Medicinal Plants: *Ocimum sanctum*, *O. basilicum* and *O. gratissimum* / M. Serwat, S. Srivastana, T.N. Khan // *IJPPR*. – 2016. – V. 8. – №. 8. – P. 1417-1424.
191. Shendure J. Next-generation DNA sequencing / J. Shendure, Ji H. // *Nature biotechnology* – 2008. – V. 26. – №. 10. – P. 1135-1145. <https://doi.org/10.1038/nbt1486>
192. Snowdon R.J. Molecular markers in Brassica oilseed breeding: Status and future possibilities / R.J. Snowdon, W. Friedt // *Plant Breeding*. – 2004. – V. 123. – №. 1. – P. 1-8. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2003.00968.x>
193. Sorokopudov V.N. Red currant in the Forest-steppe of the Ob region / V.N. Sorokopudov, A.E. Solovieva, A.S. Smirnov // *Novosib. Agro-Sib*. – 2005. – V. 120.
194. Stam P. Construction of integrated genetic linkage maps by means of a new computer package: Join Map / P. Stam // *The plant journal*. – 1993. –

- V. 3. – №. 5. – P. 739-744. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.1993.00739.x>
195. Sukhareva A.S. DNA markers for genetic analysis of crops / A.S. Sukhareva, B.R. Kuluev // *Biomics*. – 2018. – V. 10. – №. 1. – P. 69.
196. Sun X. Complete chloroplast genome assembly and phylogenetic analysis of blackcurrant (*Ribes nigrum*), red and white currant (*Ribes rubrum*), and gooseberry (*Ribes uva-crispa*) provide new insights into the phylogeny of *Grossulariaceae* / X. Sun, Y. Zhan, S. Li, Y. Liu, Q. Fu, X. Quan, C. Zhu // *PeerJ*. – 2023. – V. 11. – P. e16272.
197. Tanksley S.D. Molecular markers in plant breeding / S.D. Tanksley // *Plant Molecular Biology Reporter*. – 1983. – V. 1. – P. 3-8. <https://doi.org/10.1007/BF02680255>
198. Tanksley S.D. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild / S.D. Tanksley, S.R. McCouch // *Science*. – 1997. – V. 277. – №. 5329. – P. 1063-1066.
199. Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers / D. Tautz // *Nucleic acids research*. – 1989. – V. 17. – №. 16. – P. 6463-6471. <https://doi.org/10.1093/nar/17.16.6463>
200. Tanksley S.D. Molecular mapping of plant chromosomes / S.D. Tanksley, J. Miller, A. Paterson, R. Bernatzky // *Chromosome structure and function: impact of new concepts*. – Boston, MA: Springer US, 1988. – C. 157-173.
201. Terwilliger J.D. Gene mapping in the 20th and 21st centuries: statistical methods, data analysis, and experimental design / J.D. Terwilliger, H.H. Göring // *Human biology*. – 2009. – V. 81. – №. 5/6. – P. 663-728. <https://doi.org/10.3378/027.081.0615>
202. Thakur J. Genetic homogeneity revealed using SCoT, ISSR and RAPD markers in micropropagated *Pittosporum eriocarpum* Royle-an endemic and endangered medicinal plant / J. Thakur, M.D. Dwivedi, P.

- Sourabh, P.L. Uniyal, A.K. Pandey // PloS one. – 2016. – V. 11. – №. 7. – P. e0159050. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159050>
203. Thoday J.M. Location of polygenes / J.M. Thoday // Nature. – 1961. – V. 191. – №. 4786. – P. 368-370.
204. Turland N.J. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen / N.J. Turland, J.H. Wiersema, F.R. Barrie, W. Greuter, D.L. Hawksworth, P.S. Herendeen, G. Smith // Koeltz botanical books, China, 2018. <https://doi.org/10.12705/Code.2018>
205. Urrestarazu J. Analysis of the genetic diversity and structure across a wide range of germplasm reveals prominent gene flow in apple at the European level / J. Urrestarazu, C. Denancé, E. Ravon, A. Guyader, R. Guisnel, L. Feugey, C.E. Durel // BMC plant biology. – 2016. – V. 16. – P. 1-20. <https://doi.org/10.1186/s12870-016-0818-0>
206. van Deventer R. The development of genome-wide single nucleotide polymorphisms in blue wildebeest using the DArTseq platform / R. van Deventer, C. Rhode, M. Marx, R. Roodt-Wilding // Genomics. – 2020. – V. 112. – №. 5. – P. 3455-3464. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.04.032>
207. Vidyagina E.O. The development of the genic SSR markers for analysis of genetic diversity in gooseberry cultivars / E.O. Vidyagina, V.G. Lebedev, N.M. Subbotina, E.I. Treschevskaya, T.N. Lebedeva, K.A. Shestibratov // Agronomy. – 2021. – V. 11. – №. 6. – P. 1050.
208. Vignal A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics / A. Vignal, D. Milan, M. SanCristobal, A. Eggen // Genetics selection evolution. – 2002. – V. 34. – №. 3. – P. 275-305. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-34-3-275>
209. Vos P. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. Nucleic Acids Research, 23: 4407-4414 / P. Vos, R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T.V.

- D. Lee, M. Hornes, M. Zabeau // Go to original source. – 1995.
<https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4407/>
210. Weber J.L. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction / J.L. Weber, P.E. May // American journal of human genetics. – 1989. – V. 44. – №. 3. – P. 388.
211. Weigend M. Grossulariaceae / M. Weigend // Flowering Plants · Eudicots. The Families and Genera of Vascular Plants. – Springer. – Berlin. – 2007. – V. 9 https://doi.org/10.1007/978-3-540-32219-1_20
212. Yan Z.Z. The development and screening of EST-SSR markers in *Melilotus albus* / Z.Z. Yan, R. Yan, W. Fan, L. Kai, D.Y. Zhang, Y. Qi, J.Y. Zhang // Pratacultural Sci. – 2017.
213. Yang G.P. Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphism in landraces and cultivars of rice / G.P. Yang, M.A. Saghai Maroof, C.G. Xu, Q. Zhang, R.M. Biyashev // Molecular and General Genetics MGG. – 1994. – V. 245. – P. 187-194
<https://doi.org/10.1007/BF00283266>
214. Yang L. Development of RAPD-SCAR markers for *Lonicera japonica* (*Caprifolicaceae*) variety authentication by improved RAPD and DNA cloning / L. Yang, M.A. Khan, Z. Mei, M. Yang, T. Zhang, C. Wei, J. Fu // Revista de Biología Tropical. – 2014. – V. 62. – №. 4. – P. 1649-1657.
215. Zegeye H. Genome-wide association mapping for seedling and adult plant resistance to stripe rust in synthetic hexaploid wheat / H. Zegeye, A. Rasheed, F. Makdis, A. Badebo, F.C Ogbonnaya // PloS one. – 2014. – V. 9. – №. 8. – P. e105593. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105593>
216. Zeng Z.B. Precision mapping of quantitative trait loci / Z.B. Zeng // Genetics. – 1994. – V. 136. – №. 4. – P. 1457-1468.
<https://doi.org/10.1093/genetics/136.4.1457>
217. Zhang B.S. Phylogenetic and Morphological Evolution Study of *Ribes* L. in China Using RAD-Seq / B.S. Zhang, Z.Y. Yu, Z.C. Xu, B.J. Zheng //

Plants. – 2023. – V. 12. – №. 4. – P. 829.
<https://doi.org/10.3390/plants12040829>

218. Zhang J. Genome-wide association study for flowering time, maturity dates and plant height in early maturing soybean (*Glycine max*) germplasm / J. Zhang, Q. Song, P.B. Cregan, R.L. Nelson, X. Wang, J. Wu, G.L. Jiang // BMC genomics. – 2015. – V. 16. – P. 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1441-4>
219. Zietkiewicz E. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification / E. Zietkiewicz, A. Rafalski, D. Labuda // Genomics. – 1994. – V. 20. – №. 2. – P. 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1 – Сорта красной смородины (происхождение и
оригинаторы)

№ п/п	Сорт	Оригинатор	Происхождение
1.	1426-21-80	Россия, ВНИИСПК, Орёл	82-4-11 (Rote Spatlese × Chulkovskaya) × 78-2-118 (Rote Spatlese × Maarses Prominent)
2.	Blanka	Словакия	Rote Spatlese × Red Lake
3.	Boulogne Blanche (Булонская белая)	Франция	происхождение неизвестно
4.	Cascad	США	сеянец от свободного опыления сорта Диплом (Вишневая × White grape)
5.	Gondouin	Бельгия	гибрид смородины скалистой и обыкновенной
6.	Heros	Германия	потомок крупноплодной смородины потомок крупноплодной разновидности смородины обыкновенной
7.	Jonkheer van Tets.	Нидерланды	Файя плодородная × Рынок Лондона
8.	Losan	Словакия	Chenonceau × Ersting aus Vierlanden
9.	Margaritar	Румыния	Герой × Голландская красная
10.	North Star (Звезда севера)	США	потомок смородины обыкновенной
11.	<i>R. multiflorum</i>	-	<i>R. multiflorum</i>
12.	Red Cross (Красный крест)	США	Вишневая × White grape
13.	Rolan	Нидерланды	Jonkheer van Tets × Rozetta
14.	Rondom	Нидерланды	С.многоцветковая × (Версальская красная × Rote Hollandische)
15.	Rote Hollandische (Голландская красная)	Франция	гибрид смородины красной и смородины скалистой
16.	Rote Spatlese	Германия	Rote Hollandische × Andenken an Lorgus (тип <i>R. multiflorum</i>).
17.	Rovada	Нидерланды	Fay's Prolific × Rote Spatlese
18.	Transparent Blanche (Прозрачная белая)	Франция	потомок смородины обыкновенной
19.	Vīksne	ВНИИ садоводства им. И.В. Мичурина Мичуринск, Россия	сеянец <i>Ribes vulgare</i> (Латвия)
20.	Warner's Grape (Виноград Варнера)	Европа	потомок крупной разновидности смородины обыкновенной

21.	Weisse Hollandische (Голландская белая)	Нидерланды	потомок смородины обыкновенной
22.	White cherry	-	Происхождение неизвестно
23.	White grape	Великобритания	потомок смородины обыкновенной
24.	Алтайская рубиновая	НИИСС им. Лисавенко Барнаул, Россия	от свободного опыления сорта Файя плодородная
25.	Альфа	Бойница, Словакия	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets
26.	Ася	ВНИИСПК Орел, Россия	Чулковская × Maarse's Prominent
27.	Батищевская	Беларусь	Мясокрасная × White grape
28.	Баяна	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Red Lake
29.	Белая крупная	Беларусь	происхождение неизвестно
30.	Белая Потапенко	Новосибирск, Россия	Red Cross × Красная сибирячка
31.	Белая фея (Алмазная)	ВСТИСП Москва, Россия	происхождение неизвестно
32.	Белка	ВНИИСПК Орел, Россия	Чулковская × Red Lake
33.	Валентиновка	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets.
34.	Вика	ВНИИСПК Орел, Россия	Чулковская × Red Lake
35.	Газель	ВНИИСПК Орел, Россия	Чулковская × Maarse's Prominent
36.	Дана	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets.
37.	Дар Орла	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets.
38.	Дарница	Украина	Rondom × Алтайская ранняя
39.	Константиновская	ВСТИСП Москва, Россия	происхождение неизвестно
40.	Коралл	Саратов, Россия	Первенец × Тамбовская ранняя
41.	Красная Андрейченко	Новосибирск, Россия	свободное опыление сорта Red Cross
42.	Кремовая	ВНИИ генетики и селекции плодовых растений Мичуринск, Россия	от свободного опыления отборной формы смородины красной
43.	Мармеладница	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Maarse's Prominent

44.	Мечта	Южно-Уральский НИИ Челябинск, Россия Южно-Уральский научно-исследовательский институт садоводства и картофелеводства (ЮУНИИСК), Россия	от свободного опыления от сорта Чулковская
45.	Надежда	Южно-Уральский научно-исследовательский институт садоводства и картофелеводства (ЮУНИИСК), Россия	от свободного опыления сорта Файя плодородная
46.	Натали	ВСТИСП Москва, Россия	исходные формы неизвестны
47.	Ненаглядная	Институт плодородства Национальной академии наук Беларуси Минская обл, п. Самохваловичи, Беларусь	Вишневая × (Чудесная × Rote Hollandische)
48.	Нива	ВНИИСПК Орел, Россия	Minnesota × Чулковская
49.	Новая красная	Россия	происхождение неизвестно
50.	Огонек	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets.
51.	Орловская звезда	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Minnesota
52.	Орловчанка	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets.
53.	Осиповская	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Minnesota
54.	Памятная	Южно-Уральский научно-исследовательский институт садоводства и картофелеводства (ЮУНИИСК), Россия	от свободного опыления сорта Файя плодородная.
55.	Память Губенко	Южно-Уральский научно-исследовательский институт садоводства и картофелеводства (ЮУНИИСК), Россия	от свободного опыления сорта Файя плодородная
56.	Подарок лета	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets.
57.	Пурпурная	Беларусь	от свободного опыления сорта Rote Spatlese

58.	Ранняя сладкая	ВСТИСП Москва, Россия	Чулковская × Латурнайс
59.	Рачновская	ВСТИСП Москва, Россия	происхождение неизвестно
60.	Роза	ВНИИСПК Орел, Россия	Чулковская × Rose Cheer
61.	Рубин	Россия	происхождение неизвестно
62.	Сахарная	Россия	Чулковская × Латурнайс
63.	Светлица	Львов, Украина	Фертоди Пирос × Jonkheer van Tets
64.	Святомихайловская	Института садоводства УААН Украина	Jonkheer van Tets × Алтайская ранняя
65.	Селяночка	ВНИИСПК Орел, Россия	Rote Spatlese × Red Lake
66.	Скороспелая	Россия	из семян дикой смородины Пальчевского (в последующем установлена гибридная природа сорта)
67.	Тамбовская ранняя	Россия	Местная красная × Rote Hollandische
68.	Татьянина	Россия	происхождение неизвестно
69.	Уральская красная	Южно-Уральский научно- исследовательский институт садоводства и картофелеводства (ЮУНИИСК), Россия	от свободного опыления сорта Файя плодородная
70.	Уральские зори	Южно-Уральский научно- исследовательский институт садоводства и картофелеводства (ЮУНИИСК), Россия	от свободного опыления сорта Файя плодородная
71.	Уральский сувенир	Южно-Уральский научно- исследовательский институт садоводства и картофелеводства (ЮУНИИСК), Россия	от свободного опыления сорта Файя плодородная
72.	Устина	ВНИИСПК, Орел, Россия	Rote Spatlese × Маарсис (Маршал)
73.	Циральт	Всероссийский НИИ растениеводства им. Н. И. Вавилова Санкт-Петербург, Россия	Цирвья Писте × <i>R. altissimum</i>
74.	Чародейка	Львов, Украина	Jonkheer van Tets × Rote Spatlese
75.	Челябинская красная	Россия	от свободного опыления сорта Файя плодородная

76.	Щедрая	Павловская опытная станция ВИР	Файя плодородная × Замок Хаутон
-----	--------	-----------------------------------	---------------------------------

Приложение 2 – Приготовление лизирующего буфера рабочего раствора

	На 6 образцов
5M CTAB	1,750 мл
5M NaCl	1,125 мл
0,5 M EDTA pH8.0	0,175 мл
PVP 40	0,090 г
1M Tris-HCl pH8.0	0,175 мл
MQ	0,750 мл
Меркаптоэтанол (добавляется в рабочий раствор перед добавлением в образцы)	44 мкл

Приложение 3 – Генетические паспорта некоторых изученных сортов
красной смородины

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Ася
Оригинатор	ВНИИСПК, Орел, Россия
Происхождение	Чулковская × Maarses Prominent
Авторы	Баянова Л.В. Голяева О.Д.
Год внесения в Госреестр	2001
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/312
g1-M07	–
e1-O01	136/138
Cra-489	236
Cra-531	165/168
e3-B02	165/170
g2-L17	144
g2-G12	179/191
g2-H21	251/253
e1-O21	302/308
gr2-J05	179/187
g1-A01	207/218
g2-J08	176
g1-L12	214/224
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Баяна
Оригинатор	ВНИИСПК, Орел, Россия
Происхождение	Rote Spatlese × Red Lake
Авторы	Баянова Л.В. Джафарова В.Е. Макаркина М.А.
Год внесения в Госреестр	2007
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/307
g1-M07	–
e1-O01	136/138
Cra-489	240
Cra-531	165/168
e3-B02	165
g2-L17	144
g2-G12	185
g2-H21	251/254
e1-O21	308/309
gr2-J05	–
g1-A01	–
g2-J08	149/168
g1-L12	214/228
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Дана
Оригинатор	ВНИИСПК, Орел, Россия
Происхождение	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets
Авторы	Баянова Л.В. Голяева О.Д.
Год внесения в Госреестр	2007
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/313
g1-M07	219
e1-O01	136
Cra-489	236
Cra-531	165
e3-B02	162/165
g2-L17	144
g2-G12	183/191
g2-H21	251/254
e1-O21	295/317
gr2-J05	187
g1-A01	210/222
g2-J08	149/185
g1-L12	216/229
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Вика
Оригинатор	ВНИИСПК, Орел, Россия
Происхождение	Чулковская × Red Lake
Авторы	Баянова Л.В.
Год внесения в Госреестр	2001
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/312
g1-M07	–
e1-O01	134
CrA-489	235
CrA-531	165/168
e3-B02	165/170
g2-L17	143
g2-G12	179/191
g2-H21	251/253
e1-O21	302/308
gr2-J05	179/187
g1-A01	218/220
g2-J08	176/185
g1-L12	224/226
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Газель
Оригинатор	ВНИИСПК, Орел, Россия
Происхождение	Чулковская × Maarses Prominent
Авторы	Баянова Л.В. Джафарова В.Е.
Год внесения в Госреестр	2001
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/307
g1-M07	202
e1-O01	136
Cra-489	237
Cra-531	165/171
e3-B02	165
g2-L17	143
g2-G12	179/191
g2-H21	251/253
e1-O21	295/302
gr2-J05	187
g1-A01	207/222
g2-J08	176
g1-L12	214/228
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Мармеладница
Оригинатор	ВНИИСПК, Орел, Россия
Происхождение	Rote Spatlese × Маарсес (Маршал)
Авторы	Баянова Л.В.
Год внесения в Госреестр	1996
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/313
g1-M07	202/219
e1-O01	134/144
Crα-489	233/237
Crα-531	165/168
e3-B02	162/165
g2-L17	135/137
g2-G12	179/185/191
g2-H21	251
e1-O21	308/309
gr2-J05	187
g1-A01	207/222
g2-J08	149/185
g1-L12	216
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Нива
Оригинатор	ВНИИСПК, Орел, Россия
Происхождение	Minnesota × Чулковская
Авторы	Баянова Л.В. Джафарова В.Е.
Год внесения в Госреестр	2009
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR- локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/307
g1-M07	–
e1-O01	134/136
Cra-489	235/ 240
Cra-531	162
e3-B02	165/170
g2-L17	–
g2-G12	179/191
g2-H21	251/252
e1-O21	302/308
gr2-J05	–
g1-A01	–
g2-J08	168/176
g1-L12	224/226
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Осиповская
Оригинатор	ВНИИСПК, Орел, Россия
Происхождение	Rote Spatlese × Minnesota
Авторы	Баянова Л.В. Джафарова В.Е.
Год внесения в Госреестр	2009
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/313
g1-M07	202/219
e1-O01	134/136
Cra-489	233/ 237
Cra-531	165/168
e3-B02	165/168
g2-L17	135/137
g2-G12	179/185
g2-H21	251
e1-O21	308/309
gr2-J05	187
g1-A01	207/222
g2-J08	149
g1-L12	214/224
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Альфа
Оригинатор	Бойница, Словакия
Происхождение	Rote Spatlese × Jonkheer van Tets
Авторы	–
Год внесения в Госреестр	2009
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/313
g1-M07	202/219
e1-O01	136
Cra-489	233/237
Cra-531	165/177
e3-B02	165
g2-L17	137
g2-G12	185/191
g2-H21	251/254
e1-O21	302/309
gr2-J05	179/187
g1-A01	207/222
g2-J08	149/185
g1-L12	214/228
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Константиновская
Оригинатор	ВСТИСП, Москва, Россия
Происхождение	исходные формы неизвестны
Авторы	Смольянинова Н.К. Литвинова В.М.
Год внесения в Госреестр	1995
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/312
g1-M07	202
e1-O01	136
Cra-489	236/241
Cra-531	168/171
e3-B02	165/168/171
g2-L17	135
g2-G12	179/191
g2-H21	253
e1-O21	302
gr2-J05	179/187
g1-A01	222
g2-J08	177
g1-L12	228
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Коралл
Оригинатор	Саратов, Россия
Происхождение	Первенец × Тамбовская ранняя
Авторы	–
Год внесения в Госреестр	–
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306
g1-M07	202
e1-O01	132/138
Crα-489	233
Crα-531	168/174
e3-B02	162/165
g2-L17	135/137
g2-G12	179/189
g2-H21	251/253
e1-O21	302/309
gr2-J05	179
g1-A01	211
g2-J08	141/165
g1-L12	214/228
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Мечта
Оригинатор	Южно-Уральский НИИ Челябинск, Россия Южно-Уральский научно-исследовательский институт садоводства и картофелеводства (ЮУНИИСК), Россия
Происхождение	от свободного опыления сорта Чулковская.
Авторы	В.С. Ильин и А.П. Губенко
Год внесения в Госреестр	1987
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306
g1-M07	202
e1-O01	136/138
Crα-489	237/ 241
Crα-531	162/165
e3-B02	162/165
g2-L17	135
g2-G12	179/183
g2-H21	251
e1-O21	302/308
gr2-J05	179/187
g1-A01	–
g2-J08	179/185
g1-L12	222/226
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Надежда
Оригинатор	ВСТИСП, Москва, Россия
Происхождение	от скрещивания смородины Варшевича и смородины темно-пурпуровой (форма 312-209)
Авторы	Равкин А.С. Исайкина Л.Д. Сашко Е.К.
Год внесения в Госреестр	2006
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	307/313
g1-M07	–
e1-O01	137/139
Cra-489	237/ 241
Cra-531	165/171
e3-B02	162/165/170
g2-L17	135
g2-G12	179/183
g2-H21	251
e1-O21	302/308
gr2-J05	179/187
g1-A01	216/220
g2-J08	168/179/185
g1-L12	222/226
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Натали
Оригинатор	ВСТИСП
Происхождение	исходные формы неизвестны
Авторы	Смольянинова Н.К. Литвинова В.М.
Год внесения в Госреестр	1991
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/307
g1-M07	202
e1-O01	136/138
Crα-489	237
Crα-531	162/165
e3-B02	162/165
g2-L17	125
g2-G12	179/185
g2-H21	251/254
e1-O21	308/309
gr2-J05	187
g1-A01	220/222
g2-J08	168
g1-L12	226/228
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Ранняя сладкая
Оригинатор	ВСТИСП, Москва, Россия
Происхождение	Чулковская × Латурнайс
Авторы	Н.К. Смольянинова А.П. Ниточкина
Год внесения в Госреестр	1974
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	307/308
g1-M07	–
e1-O01	137
Cra-489	236
Cra-531	168/171
e3-B02	162/165
g2-L17	–
g2-G12	179/191
g2-H21	251/253
e1-O21	302
gr2-J05	179/187
g1-A01	207/222
g2-J08	168/177
g1-L12	213/229
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Память Губенко
Оригинатор	Южно-Уральский научно-исследовательский институт садоводства и картофелеводства (ЮУНИИСК), Россия
Происхождение	от свободного опыления сорта Файя плодородная
Авторы	Ильин В.С. Губенко А.Л.
Год внесения в Госреестр	2000
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/313
g1-M07	219
e1-O01	132/138
Cra-489	237/241
Cra-531	162/174
e3-B02	165
g2-L17	125/135
g2-G12	179/185
g2-H21	251/254
e1-O21	308
gr2-J05	179/187
g1-A01	218/220
g2-J08	185
g1-L12	226
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПАСПОРТ	
Сорт	Сахарная
Оригинатор	–
Происхождение	Чулковская × Латурнайс
Авторы	
Год внесения в Госреестр	2003
Местонахождение	Биоресурсная коллекция ВНИИСПК
SSR локус	Размеры п.н.
g1-K04	306/313
g1-M07	219
e1-O01	136
Crα-489	236
Crα-531	165/168
e3-B02	162/170
g2-L17	128/137
g2-G12	179/191
g2-H21	251/253
e1-O21	302/309
gr2-J05	187
g1-A01	207/218
g2-J08	169/176
g1-L12	214/224
*уникальные аллели/сочетания аллелей выделены полужирным	