

ДНК-ПАСПОРТИЗАЦИЯ СОРТОВ СМОРОДИНЫ КРАСНОЙ ЗАРУБЕЖНОЙ СЕЛЕКЦИИ БИОРЕСУРСНОЙ КОЛЛЕКЦИИ ВНИИСПК С ПРИМЕНЕНИЕМ SSR-МАРКЕРОВ

М.А. Должикова , А.В. Пикунова, А.А. Павленко, О.Д. Голяева

ФГБНУ ВНИИ селекции плодовых культур, 302530, Россия, Орловская область, Орловский район, д. Жилина, ВНИИСПК, info@vniispk.ru

Аннотация

Смородина красная – важная ягодная культура, которая ценна своим витаминным составом, неприхотливостью в агротехнике, ее популярность набирает силу в век развития тенденции здорового витаминизированного питания человека. Молекулярно-генетические методы активно используются как весомое дополнение к классическим подходам изучения растительных ресурсов, в частности, в целях наиболее точной сортовой идентификации. ДНК-паспортизация – метод корректной идентификации исследуемого объекта по коротким генетическим маркерам в ДНК. Как показывают исследования в России и за рубежом наиболее распространенными и эффективными для целей паспортизации являются микросателлитные маркеры (SSR). Для данного типа маркеров характерны значительная аллельная изменчивость, кодоминантность, распределение по всему геному. В представленном исследовании было проведено генотипирование зарубежных сортов смородины красной биоресурсной коллекции ВНИИСПК с использованием микросателлитных ДНК-маркеров. В анализе были задействованы сорта: Батищевская, Белая крупная, Blanka, Boulogne Blanche, White cherry, Viksne, Warner's Grape, Heros, Weisse Hollandische, Rote Hollandische, Gondouin, Дарница, North Star, Jonkheer van Tets, Cascad, Red Cross, Losan, Margaritar, Ненаглядная, Transparent Blanche, Пурпурная, Rovada, Rondon, Светлица, Святомихайловская, White grape, Чародейка. Было проанализировано 14 микросателлитных маркеров: g1-K04, g1-M07, e1-O01, Cra-489, Cra-531, e3-B02, g2-L17, g2-G12, g2-H21, e1-O21, g1-A01, g2-J08, g1-L12, gr2-J05. Маркеры были объединены в мультиплексные наборы: оптимальные сочетания SSR-маркеров позволили одновременно анализировать несколько локусов и получать хорошо интерпретируемые результаты при фрагментном анализе продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР). По результатам микросателлитного профилирования изучаемые сорта смородины красной показали сорт-специфические комбинации аллелей. В результате проведенного анализа для 25 сортов смородины красной по 14 микросателлитным локусам разработаны идентификационные формулы генотипов – генетические паспорта.

Ключевые слова: *Ribes rubrum*, микросателлитные маркеры, идентификация

DNA CERTIFICATION OF FOREIGN RED CURRANT CULTIVARS OF THE VNIISPK BIORESOURCЕ COLLECTION USING SSR MARKERS

М.А. Dolzhikova , А.В. Pikunova, А.А. Pavlenko, О.Д. Golyaeva

Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding, 302530, Russia, Orel region, Orel district, Zhilina, VNIISPK, info@vniispk.ru

Abstract

Red currant is an important berry crop, which is valuable for its vitamin composition and unpretentiousness in agricultural technology. Its popularity is gaining strength in the age of the development of the trend of healthy vitaminized human nutrition. Molecular genetic methods are

actively used as a significant addition to the classical approaches to the study of plant resources, in particular, for the most accurate identification of cultivars. DNA certification is a method of correct identification of the object under study by short genetic markers in DNA. According to research in Russia and abroad, microsatellite markers are the most common and effective for certification purposes (SSR). This type of markers is characterized by significant allelic variability, codominance, and distribution throughout the genome. In this study, genotyping of foreign red currant cultivars of the RRIFCB bioresource collection was carried out using microsatellite DNA markers. The following red currant cultivars were involved in the analysis: Batishchevskaya, Belaya Krupnaya, Blanka, Boulogne Blanche, White cherry, Viksne, Warner's Grape, Heros, Weisse Hollandische, Rote Hollandische, Gondouin, Darnica, North Star, Jonkheer van Tets, Cascad, Red Cross, Losan, Margaritar, Nenaglyadnaya, Transparent Blanche, Purpurnaya, Rovada, Rondon, Svetlica, Svyatomihajlovskaya, White grape, Charodejka. A total of 14 microsatellite markers were analyzed: g1-K04, g1-M07, e1-O01, Cra-489, Cra-531, e3-B02, g2-L17, g2-G12, g2-H21, e1-O21, g1-A01, g2-J08, g1-L12, gr2-J05. The markers were combined into multiplex sets: optimal combinations of SSR markers made it possible to analyze several loci simultaneously and obtain well-interpreted results in the fragmentary analysis of PCR products. According to the results of microsatellite profiling, the studied varieties showed variety-specific combinations of alleles. Thus, as a result of the analysis, identification formulas of genotypes – genetic passports – were developed for 25 varieties of red currant at 14 microsatellite loci.

Key words: *Ribes rubrum*, microsatellite markers, identification

Введение

Смородину красную можно выделить как одну из наиболее ценных ягодных культур, ее плоды богаты биологически активными веществами, сахарами, органическими кислотами, которые обладают ценностью для организма человека.

Биоресурсная коллекция красной смородины Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур включает более 80 сортов отечественной и зарубежной селекции (Голяева, Панфилова, 2020). Создан и передан на государственное испытание 21 сорт красной смородины, из которых 13 сортов внесены в Госреестр селекционных достижений, допущенных к использованию.

Для идентификации сортов смородины красной используются количественные и качественные признаки, которые определяются визуально. Однако данные признаки зависят от внешних факторов. В результате возникает сложность сортовой идентификации. В связи с этим наиболее эффективной системой маркирования сортов является генетическая идентификация сорта, представляющая собой метод получения генетически детерминированных характеристик с помощью молекулярных маркеров (Воробьева, Пошелюк, 2021; Сухарева, Кулуев, 2018). Проведение генетической паспортизации селекционных достижений считается актуальной задачей. Она необходима как для хранения, сертификации, идентификации и регистрации генетических ресурсов растений, так и для предоставления селекционерам прав интеллектуальной собственности.

Для разработки систем идентификации сортов различными научными коллективами успешно использовались и используются микросателлитные ДНК-маркеры. Проведенный анализ литературных данных показывает, что за последние годы получены новые данные и сведения о структурной организации генома ягодных культур рода *Ribes* (Должикова, 2019).

Однако наиболее изученной культурой рода *Ribes* с применением ДНК-маркеров является смородина черная. Для нее разработан ряд методик для маркер-вспомогательной селекции (Brennan et al., 2002; Russell et al., 2011, 2014).

Для изучения смородины первые микросателлитные маркеры были разработаны шотландскими учеными (Brennan et al., 2002). В дальнейшем, различными 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).

Проект RIBESCO, направленный на углубленное изучение и сохранение генофонда представителей рода *Ribes* L. Северной и Центральной Европы был запущен Европейским научным сообществом. В рамках проекта более 800 сортообразцов были генотипированы с помощью микросателлитных маркеров, на основании полученных данных вкпе с фенотипическими были отобраны образцы для дальнейшей криоконсервации (Antonius et al., 2012).

Научным коллективом республики Беларусь с помощью восьми SSR-маркеров 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 (Межнина, Урбанович, 2017).

Также в работах М. Cavanna с соавторами (2009), изучавших европейский сорта, показано расположение сортов черной и красной смородины в разных кластерах.

Научным коллективом ВНИИСПК была составлена первая в мире генетическая карта смородины красной (Пикунова и др., 2020).

Цель данной работы – составление ДНК-паспортов сортов смородины красной зарубежной селекции биоресурсной коллекции ВНИИСПК с применением SSR-маркеров в пределах анализируемой выборки. Ранее в рамках наших исследований были получены данные по полиморфизму микросателлитных локусов 73-х сортов смородины красной, что послужило заделом и основой для разработки и составления генетических паспортов изучаемых сортов (https://drive.google.com/file/d/1oXVSExtHPXJbWOH-T3Y_Ke1_M2ZQTwf/view).

Материалы и методы

Краткая характеристика растительного материала

В исследованиях были задействованы 27 сортов смородины красной зарубежной селекции биоресурсной коллекции ВНИИСПК: Батищевская, Белая крупная, Blanka, Boulogne Blanche, White cherry, Viksne, Warner's Grape, Heros, Weisse Hollandische, Rote Hollandische, Gondouin, Дарница, North Star, Jonkheer van Tets, Cascad, Red Cross, Losan, Margaritar, Ненаглядная, Transparent Blanche, Пурпурная, Rovada, Rondon, Светлица, Святомихайловская, White grape, Чародейка (таблица 1).

Таблица 1 – Объекты исследований

№	Сорт	Страна	Происхождение
1	Батищевская	Беларусь	Мясокрасная × White grape
2	Белая крупная	Беларусь	происхождение неизвестно
3	Blanka	Словакия	Rote Spatlese × Red Lake
4	Boulogne Blanche	Франция	происхождение неизвестно
5	White cherry	Чехия	потомок смородины обыкновенной
6	Viksne	Латвия	свободное опыление смородины Варшевича
7	Warner's Grape	Европа	потомок крупноплодной разновидности смородины обыкновенной
8	Heros	Германия	потомок крупноплодной разновидности смородины обыкновенной
9	Weisse Hollandische	Нидерланды	потомок смородины обыкновенной
10	Rote Hollandische	Франция	гибрид смородины красной и смородины скалистой
11	Gondouin	Бельгия	гибрид смородины скалистой и обыкновенной
12	Дарница	Украина	Rondon × Алтайская ранняя

продолжение таблицы 1

№	Сорт	Страна	Происхождение
13	North Star	США	потомок смородины обыкновенной
14	Jonkheer van Tets	Голландия	Файя плодородная × Рынок Лондона
15	Cascad	США	свободное опыление сорта Диплом (Вишневая × White grape)
16	Red Cross	США	Вишневая × White grape
17	Losan	Словакия	происхождение неизвестно
18	Margaritar	Румыния	происхождение неизвестно
19	Ненаглядная	Беларусь	Вишневая × (Чудесная × Rote Hollandische)
20	Transparent Blanche	Франция	потомок смородины обыкновенной
21	Пурпурная	Беларусь	от свободного опыления сорта Rote Spatlese
22	Rovada	Нидерланды	Файя плодородная × Rote Spatlese
23	Rondom	Голландия	смородина многоцветковая × (Версальская красная × Rote Hollandische)
24	Светлица	Украина	Jonkheer van Tets × Фертоди Пирос
25	Святомихайловская	Украина	Jonkheer van Tets × Алтайская ранняя
26	White grape	Великобритания	потомок смородины обыкновенной
27	Чародейка	Украина	Jonkheer van Tets × Rote Spatlese

Некоторые сорта (Jonkheer van Tets, Cascad) продолжительное время представляют большую селекционную ценность как источники устойчивости к абиотическим факторам (Голяева, Панфилова, 2016).

Образцы растительного материала отобраны на селекционных участках смородины красной ВНИИСПК совместно с лабораторией селекции и сортоизучения смородины.

Методы

ДНК-экстрагировали из ткани молодых листьев с помощью СТАВ-метода (Doyle, Doyle, 1990).

Полимеразную цепную реакцию (далее ПЦР) проводили с использованием реактивов и *BioTaq* полимеразы фирмы Dialat Ltd. на амплификаторе Bio-Rad T100 Thermal Cycler в реакционной смеси объемом 20 мкл, содержащей 1хПЦР буферный раствор, 200 мкМ нуклеотидов по 2 мкМ прямого и обратного праймера, 0,3 ед. Taq ДНК-полимеразы и 10 нг ДНК.

Использовали следующие параметры ПЦР: предварительная денатурация – 5 минут при 95 °С; денатурация – 30 секунд при 95 °С; отжиг праймера – 30 секунд; синтез ДНК – 30 секунд при 72 °С (30 циклов); элонгация – 10 минут при 72 °С.

В данной работе использовались пары праймеров к микросателлитным локусам, которые ранее использовались для изучения представителей рода смородина (Cavanna et al., 2009; Antonius et al., 2012; Palmieri et al., 2013 и др.). Проанализированные микросателлитные локусы приведены в таблице 2.

Как промежуточный этап исследований был проведен электрофорез продуктов ПЦР в 8% полиакриламидном геле (ПААГ) в целях исключения отсутствия амплификации.

Последующее разделение продуктов осуществлялось на приборе ABI prism Genetic Analyzer 310. Образцы для проведения анализа были собраны в единую плашку и анализ был осуществлен одновременно. После разделения фрагментов капиллярным электрофорезом данные сохранялись в формате FSA. Визуализация данных по изучаемым микросателлитным локусам проводилась в программе PeakScannerSoftware_v01 (PeakScanner™ SoftwareVersion 1.0. PartNumber 4382253 Rev. A 12/2006).

Результаты и их обсуждение

На начальном этапе выполнения исследований была проведена работа по подбору оптимальных наборов SSR-маркеров, используемых в работе. При их формировании, наряду с температурой отжига праймеров, учитывали размер амплифицируемых фрагментов. В итоге были сформированы мультиплексные наборы – оптимальные сочетания SSR-маркеров (таблица 2), которые позволили получать легко интерпретируемые результаты в ходе фрагментного анализа.

Таблица 2 – Исследуемые микросателлитные локусы

Локус	Прямой праймер 5'→3' Обратный праймер 5'→3'	Флуоресцентная метка	Группа сцепления	T, °C
Мультиплекс 1				
g1-K04	TGT TCC CTG TTT CCT TCA AAA GGA CGT GGA CGA TGA GAG TT	FAM	1	52
g1-M07	TCC CGT TAC TGG AGT GGT GT CCA TGG TTT TCC GAT TTG TT	R6G	1	52
e1-O01	CCT TTC CAG AGA AAA CTC AAA CA AAG TAT GGG AAC AAC GGC AG	FAM	6	54
Мультиплекс 2				
g2-H21	TGC CCT TTT TGG TCA TTT TC CAA TCG TCG ATG AAG GTC TG	FAM	4	50
g2-G12	GTG ACC CAC CTA AAC CGT CC GGA GTG GAG GGT TGG AAA AT	R6G	7	54
e1-O21	TCT CTC CAA CTG AGA AGG AAA A GAT TTG TTC TTG TGC AGC GA	R6G	4	50
Мультиплекс 3				
g1-L12	CGAAGGTTGAATCGGTGAGT TTGTGAGCCGTAACCACGTA	FAM	5	52
g2-J08	CGC CGA GCT CTA ATC ACT GT ATA GCC CAT GCC CAT ATT CA	R6G	2	54
Мультиплекс 4				
Cra-489	CTATTATCACACCCTCAACAA GTTTATACGACACATCAACTTTCCA	FAM	3	50
Cra-531	AGAAGTCAAAGTGAAGAACC GTTTGTGTTGAAGGAAGACAGAGA	R6G	10	52
e3-B02	AAG ACG AAG ACG ACG ACG AT CTG ATC TTT GCC GAA TGG TT	FAM	5	52
Мультиплекс 5				
gr2-J05	CAA AAC TGA TTA GGG GAT CA TTT GAA GAA GAG ATG GCG AAA	FAM	1	52
g2-L17	TTT GGA AAA CCT CCC CTT TT GAG CTG TTG CTG TTG CCA TA	FAM	4	50
g1-A01	CGA AGG TTG AAT CGG TGA GT CGT AGC CAC GTA GTT CCA CA	FAM	5	52

Ранее в наших исследованиях были изучены некоторые представленные сорта (Должикова и др., 2021). В данных исследованиях к ранее изученным сортам были добавлены зарубежные сорта смородины красной биоресурсной коллекции ВНИИСПК в целях расширения изучаемой выборки при проведении генетической паспортизации.

Генотипы изучаемых сортов были проанализированы по указанным выше четырнадцать микросателлитным локусам, два из которых Cra-489 и Cra-531 были впервые опубликованы

в исследованиях по составлению первой в мире генетической карты смородины красной (Пикунова и др., 2020).

На основании результатов генотипирования по 14 микросателлитным локусам были составлены молекулярно-генетические паспорта (таблица 3).

Таблица 3 – Микросателлитные ДНК-паспорта изучаемых сортов (размеры указаны в п.н.– пар нуклеотидов)

Сорт	g1-K04	g1-M07	e1-O01	Cra-489	Cra-531	e3-B02	g2-L17	g2-G12	g2-H21	e1-O21	g1-A01	g2-J08	g1-L12	g12-J05
Батищевская	306: 319	NA	132: 134	233: 237	162: 168	162: 165	135	179: 189	249: 252	302: 309	218: 222	169	224: 228	187
Белая крупная	306: 307	202: 219	134: 136	233: 240	162: 165: 177	162: 165	135	189: 191	253	302: 308	222: 228	168	228: 234	187
Blanka	306: 313	219	136	235	165: 168	162: 165	135: 144	179: 185	253: 254	302: 317	210: 220	149: 185	226	179: 187
Boulogne Blanche	306: 307	202	136: 138	233	168	165: 168	135: 137	179: 189	249: 251	302: 309	222: 228	169	228: 234	187
White cherry	306	NA	134: 138	237: 241	162	162: 165	135: 137	179: 191	249: 251	302	222: 228	180	228: 234	187
Viksne	306: 317	202: 216	134: 136	241	162: 168	159: 162	159	181: 191	253: 256	302: 320	222: 228	151	229: 234	187
Warner's Grape	307	NA	135: 137	233: 240	162: 165	154: 165	135	179	253	302: 308	207: 220	168	213: 226	187
Heros	306	202	136: 138	237	165: 168	165	135: 137	179	251	295: 302	222	185	228	187
Rote Hollandische	307	202: 211	149	236	165: 174	165	125	185: 191	251: 254	309: 317	216: 222	180	222: 228	187
Weisse Hollandische	306	NA	134: 136	233: 241	162: 165	162: 165	135: 137	179: 191	249: 251	302: 309	222: 228	180	228: 234	187
Gondouin	307: 309	202: 211	136: 158	233	165: 174	165	112	187: 191	251: 253	309: 317	214: 222	167	220: 228	187
Дарница	306: 307	202: 211	136	235: 241	165: 168	165	135	179: 183	251: 253	302	207: 222	169	214: 228	187
North Star	306: 307	NA	136: 138	237	165: 168	165: 168	135: 137	179: 191	251	295: 302	207: 222	186	214: 228	179: 187
Jonkheer van Tets	307: 308	NA	137: 139	237	165	165	135: 137	179: 191	251	302	207: 222	161: 185	214: 228	179: 187
Cascad	306	202	136: 138	237	162: 168	162: 165	137	179	251	302: 309	207: 220	168: 185	214: 226	179: 187
Red Cross	306	202	136: 138	237	162: 168	162: 165	137	179	251	302: 309	207: 220	169: 185	214: 226	179: 187
Losan	306: 307	211	136: 138	237	162: 165	165	125	179: 185	251: 254	302: 308	207: 216	153: 172	214: 222	187
Margaritar	306: 307	202	136: 138	237: 241	165: 168	165	125	185: 191	251: 254	308	220	180	222: 226	179: 187
Ненаглядная	306: 307	202: 211	134: 149	237: 241	162: 174	165	125	179: 185	251: 254	302: 308: 317	207: 216	161	214: 222	187

продолжение таблицы 3

Сорт	g1-K04	g1-M07	e1-O01	Cra-489	Cra-531	e3-B02	g2-L17	g2-G12	g2-H21	e1-O21	g1-A01	g2-J08	g1-L12	gr2-J05
Transparent Blanche	306	202	134	233: 240	162: 165	162: 165	135	189: 191	253	302: 308	222: 228	169	228: 234	NA
Пурпурная	307: 313	202: 211	136	235	165	165	125: 144	185: 191	251: 254	308: 312	207: 222	180	214: 228	187
Rovada	306: 313	202: 219	136: 138	NA	165: 168	162: 165	144	185: 191	251: 254	302: 312	207: 222	180	214: 228	179: 187
Rondom	306: 307	202: 211	136	233: 241	165: 168	162: 165	144	183: 191	252: 254	302: 312	207: 216	168	214: 222	187
Светлица	307: 308	NA	137: 139	233: 237	165: 168	165	137	191	251	302	222: 228	168: 185	228: 233: 234	179: 187
Святомихайловская	307	NA	135: 139	233	162: 168	162: 165	144	179: 191	253: 254	302: 312	207: 228	168	214: 234	187
White grape	307: 308	NA	135: 137	233: 241	162: 165	162: 165	135: 137	179: 191	249: 251	302: 309	222: 228	166: 180	228: 234	187
Чародейка	306: 307	202	136: 138	233: 237	165: 168	165	137	191	251	295: 302	222: 228	169: 185	228: 234	179: 187

Примечания: NA – нет амплификации, процесс полимеразной цепной реакции на данных сортах по конкретным локусам повторялся дважды; **полужирным шрифтом** выделены уникальные аллели или уникальные сочетания аллелей по одному или нескольким локусам, которые не встречаются у других сортов проанализированной выборки

В большинстве случаев у каждого изучаемого генотипа смородины красной выявлено не более двух фрагментов в локусах: g1-K04, g1-M07, e1-O01, Cra-489, e3-B02, g2-L17, g2-G12, g2-H21, g1-A01, g2-J08 и gr2-J05.

Однако, в некоторых локусах у изучаемых образцов амплифицировались три фрагмента – у сорта Белая крупная в локусе Cra-531 размером 162:165:177 п.н., у сорта Ненаглядная в локусе e1-O21 (302:308:317 п.н.) и у сорта Светлица в локусе g1-L12 размером 228:233:234. В литературе есть сообщения об амплификации более чем двух аллелей в некоторых микросателлитных локусах у диплоидных форм, что связано с дубликацией микросателлитных локусов на одной и той же или на разных хромосомах (Galli et al., 2005).

В результате фрагментного анализа были получены микросателлитные профили с четко детектированным аллельным состоянием каждого анализируемого локуса по всем сортам. На рисунке, в качестве примера (рисунок 1), представлены результаты фрагментного анализа сорта White grape по локусу g2-J08.

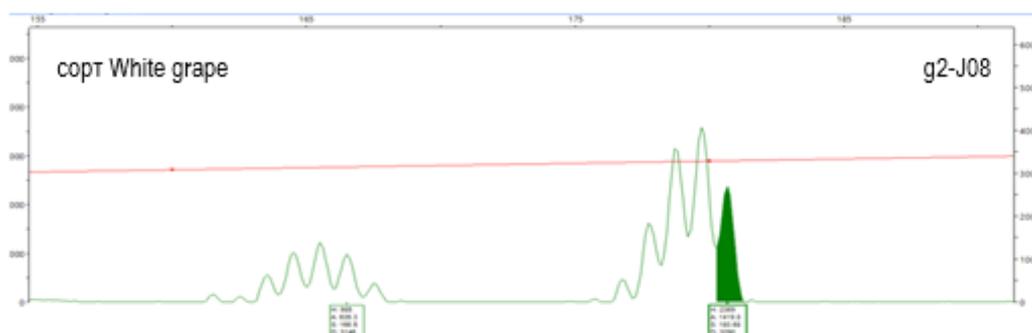


Рисунок 1 – Результаты фрагментного анализа сорта White grape

Как видно из результатов фрагментного анализа, сорт White grape обладает уникальным сочетанием аллелей в пределах проанализированной выборки в локусе g2-J08 размерами 166:180 п.н. соответственно.

У сорта Белая крупная выявлено уникальное сочетание аллелей в локусе Cra-531 (162:165:177 п.н.). В пределах проанализированной выборки такое сочетание аллелей в данном локусе у других сортов не встречается. Это дает возможность отличить данный сорт от других сортов выборки по данному сочетанию аллелей в конкретном локусе.

Такие сорта как Blanka (локус g1-A01 сочетание аллелей 210:220 п.н.), Jonkheer van Tets (локус g2-J08 сочетание аллелей 161:185 п.н.), Rondon (локус g2-H21 с сочетанием аллелей 252:254 п.н.) и сорт Светлица (локус g1-L12 сочетание аллелей 228:233:234 п.н.) в своих идентификационных формулах имеют один конкретный локус (указанный возле каждого сорта) с уникальным, отличимым их от других сортов выборки, сочетанием аллелей.

Выявлены сорта, для идентификации которых необходимо проанализировать одновременно от 2 до 4 локусов, так как они уникальны не только сочетанием аллелей в конкретном локусе, но и сочетанием между собой нескольких локусов что вкпе дает идентификационную формулу.

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, Vksne, Warner's Grape, Heros, Rote Hollandische, Margaritar, Ненаглядная и Святомихайловская наблюдается уникальность только при одновременном анализе более двух локусов (таблица 3).

Выводы

По результатам микросателлитного профилирования изучаемые сорта смородины красной показали сорт-специфические комбинации аллелей в проанализированных микросателлитных локусах.

В результате проведенного анализа по 14 микросателлитным локусам для 25 сортов смородины красной разработаны идентификационные формулы генотипов – генетические паспорта. Исключение составили два сорта: Cascad и Red Cross. Повторные исследования показали, что представленного набора маркеров недостаточно для их идентификации.

Полученные ДНК-паспорта могут быть использованы для идентификации сортов смородины красной в пределах проанализированной выборки, в целях проверки на соответствие посадочного материала тому или иному сорту, а также решения возможных спорных вопросах авторства сорта.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Воробьева М.М., Пошелюк А.Д. ДНК-паспортизация некоторых редких видов растений фауны Беларуси // Биотехнология: достижения и перспективы развития: материалы конференции. Пинск: ПолесГУ. 2021. С. 4-8. EDN: [UDXGRM](#)
2. Голяева О.Д., Панфилова О.В. Основные итоги селекции красной смородины во ВНИИСПК // Селекция и сорторазведение садовых культур. 2020. Т. 7, № 1-2. С. 49-51.

EDN: [HIBCUV](#)

3. Голяева О.Д., Панфилова О.В. Генетическая коллекция смородины красной ВНИИСПК-результаты и перспективы использования // Плодоводство и ягодоводство России. 2016. Т. 47. С. 103-106. EDN: [XCRKCP](#)
4. Должикова М.А. Павленко А.А., Пикунова А.В., Голяева О.Д. Изучение полиморфизма микросателлитных локусов сортов смородины красной *Ribes rubrum* // Вестник российской сельскохозяйственной науки. 2021. № 4. С. 20-23. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2021/4/20-23>. EDN: [IGZZAT](#)
5. Должикова М.А. ДНК-маркеры в изучении генома смородины красной // Современное садоводство. 2019. № 4. С. 1-15. <https://doi.org/10.24411/2312-6701-2019-10401>. EDN: [GLDCCN](#)
6. Межнина О.А., Урбанович О.Ю. Изучение генетического разнообразия представителей рода *Ribes* L., выращиваемых в Беларуси // Цитология и генетика. 2017. Т. 51, № 6. С. 32-40.
7. Пикунова А.В., Горюнова С.В., Горюнов Д.В., Должикова М.А., Голяева О.Д. Генетическая карта смородины красной (*Ribes rubrum* L.), построенная с применением SSR и SNP ДНК-маркеров // Генетика. 2020. Т. 56, № 11. С. 1340-1344. <https://doi.org/10.31857/S0016675820100100>. EDN: [FAGZVX](#)
8. Сухарева А.С., Кулуев Б.Р. ДНК-маркеры для генетического анализа сортов культурных растений // Биомика. 2018. Т. 10, № 1. С. 069-084. EDN: [XRLWSL](#)
9. Antonius K., Karhu S., Kaldmae H., et al. Development of the Northern European *Ribes* core collection based on a microsatellite (SSR) marker diversity analysis // Plant Genetic Resources. 2012. Vol. 10, № 1. P. 70-73. <https://doi.org/10.1017/S1479262111000980>
10. Brennan R., Jorgensen L., Woodhead M., Russell J. Development and characterization of SSR markers in *Ribes* species // Molecular Ecology Notes. 2002. Vol. 2, № 3. P. 327-330. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00233.x>
11. Cavanna M., Torello Marinoni D., Beccaro G.L., Bounous G. Microsatellite-based evaluation of *Ribes* spp. germplasm // Genome. 2009. Vol. 52, № 10. P. 839-848. <https://doi.org/10.1139/G09-057>
12. Galli Z., et al. Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers // HortScience. 2005. Vol. 40, № 7. P. 1974-1977. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.7.1974>
13. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue // Focus. 1990. Vol. 12, № 1. P. 13-15. <https://doi.org/10.4236/ijoc.2019.92009>
14. Palmieri L., Grando M.S., Sordo M., et al. Establishment of molecular markers for germplasm management in a worldwide provenance *Ribes* spp. collection // Plant Omics. 2013. Vol. 6, №3. P. 165-174. https://www.pomics.com/palimeri_6_3_2013_165_174.pdf
15. Russell J.R., Bayer M., Booth C. et al. Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (*Ribes nigrum*) // BMC Plant Biol. 2011. № 11. P. 147. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-147>
16. Russell J., Hackett C., Hedley P., et al. The use of genotyping by sequencing in blackcurrant (*Ribes nigrum*): developing high-resolution linkage maps in species without reference genome sequences // Molecular Breeding. 2014. № 33. P. 835–849. <https://doi.org/10.1007/s11032-013-9996-8>

References

1. Vorobyova, M.M., Poshelyuk, A.D. (2021). DNA certification of some rare plant species of the fauna of Belarus. In *Biotechnology: achievements and development prospects: proc. sci. conf.* (pp. 4-8). Pinsk: Polesky state university. EDN: [UDXGRM](#). (In Russian).

2. Golyaeva, O.D., & Panfilova, O.V. (2020). Main results of red currant breeding at VNIISPK. *Breeding and variety cultivation of fruit and berry crops*, 7(1-2), 49-51. EDN: [HIBCUV](#). (In Russian, English abstract).
3. Golyaeva, O.D., & Panfilova, O.V. (2016). Genetic collection of All-Russian research institute of fruit crop breeding of red currants – results and perspective of using. *Pomiculture and small fruits culture in Russia*, 47, 103-106. EDN: [XCRKCP](#). (In Russian, English abstract).
4. Dolzhikova, M.A., Pavlenko, A.A., Pikunova, A.V., & Golyaeva, O.D. (2021). Study of polymorphism of microsatellite loci of red currant varieties *Ribes rubrum*. *Vestnik of the russian agricultural science*, 4, 20-23. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2021/4/20-23>. EDN: [IGZZAT](#). (In Russian, English abstract).
5. Dolzhikova, M. A. (2019). DNA markers in the study of the red currant genome. *Contemporary horticulture*, 4, 1-15. <https://doi.org/10.24411/2312-6701-2019-10401>. EDN: [GLDCCN](#). (In Russian, English abstract).
6. Mezhnina, O.A., & Urbanovich, O.Y. (2017). Study of genetic variability of *Ribes L.* representatives grown in Belarus, *TSitologiya i Genetika*, 51(6), 32-40. (In Russian, English abstract).
7. Pikunova, A.V., Goryunova, S.V., Goryunov, D.V., Dolzhikova, M.A., & Golyaeva, O.D. (2020). The development of a genetic linkage map of redcurrant (*Ribes rubrum L.*) by means of SSR and SNP DNA markers. *Genetika*. 56(11), 1340-1344. <https://doi.org/10.31857/S0016675820100100>. EDN: [FAGZVX](#). (In Russian, English abstract).
8. Sukhareva, A.S., & Kuluyev, B.R. (2018). DNA markers for genetic analysis of crops. *Biomics*, 10(1), 069-084. EDN: [XRLWSL](#). (In Russian, English abstract).
9. Antonius, K., Karhu, S., Kaldmae, H., et al. (2012). Development of the Northern European *Ribes* core collection based on a microsatellite (SSR) marker diversity analysis. *Plant Genetic Resources*, 10(1), 70-73. <https://doi.org/10.1017/S1479262111000980>
10. Brennan, R., Jorgensen, L., Woodhead, M., & Russell, J. (2002). Development and characterization of SSR markers in *Ribes* species. *Molecular Ecology Notes*, 2(3), 327-330. <https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2002.00233.x>
11. Cavanna, M., Torello Marinoni, D., Beccaro, G.L., & Bounous, G. (2009). Microsatellite-based evaluation of *Ribes* spp. germplasm. *Genome*, 52(10), 839-848. <https://doi.org/10.1139/G09-057>
12. Galli, Z., Halasz, G., Kiss, E., Heszky, L., & Dobranszki, J. (2005). Molecular identification of commercial apple cultivars with microsatellite markers. *HortScience*, 40(7), 1974-1977. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.40.7.1974>
13. Doyle, J.J. & Doyle J.L. (1990). Isolation of plant DNA from faesh tissue. *Focus*, 12(1), 13-15. <https://doi.org/10.4236/ijoc.2019.92009>
14. Palmieri, L., Grando, M.S., Sordo, M., Grisenti, M., Martens, S., & Giongo, L. (2013). Establishment of molecular markers for germplasm management in a worldwide provenance *Ribes* spp. collection. *Plant Omics*, 6(3): 165-174. Retrieved from: https://www.pomics.com/palimeri_6_3_2013_165_174.pdf
15. Russell, J.R., Bayer, M., Booth, C., Cardle, L., Hackett, C.A., Hedley, P.E., & Brennan, R.M. (2011). Identification, utilisation and mapping of novel transcriptome-based markers from blackcurrant (*Ribes nigrum*). *BMC Plant Biology*, 11, 147. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-147>
16. Russell, J., Hackett, C., Hedley, P., Liu, H., Milne, L., Bayer, M., & Brennan, R. (2014). The use of genotyping by sequencing in blackcurrant (*Ribes nigrum*): developing high-resolution linkage maps in species without reference genome sequences. *Molecular breeding*, 33, 835-849. <https://doi.org/10.1007/s11032-0013-9996-8>

Авторы:

Мария Александровна Должикова, младший научный сотрудник лаборатории биохимической генетики ФГБНУ ВНИИСПК, dolzhikova@orel.vniispk.ru

Анна Викторовна Пикунова, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией биохимической генетики ФГБНУ ВНИИСПК, pikunova@orel.vniispk.ru

Анна Андреевна Павленко, младший научный сотрудник лаборатории биохимической генетики ФГБНУ ВНИИСПК, pavlenko@orel.vniispk.ru

Ольга Дмитриевна Голяева, кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией селекции и сортоизучения смородины ФГБНУ ВНИИСПК, golyaeva@orel.vniispk.ru

Authors details:

Maria Dolzhikova, junior researcher at the biochemical genetics laboratory of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPК), dolzhikova@orel.vniispk.ru

Anna Pikunova, PhD in Biology, leading researcher at the biochemical genetics laboratory of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPК), pikunova@orel.vniispk.ru

Anna Pavlenko, junior researcher at the biochemical genetics laboratory of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPК), pavlenko@orel.vniispk.ru

Olga Golyaeva, PhD in Agriculture, leading researcher at the currants breeding and cultivar study laboratory of the Russian Research Institute of Fruit Crop Breeding (VNIISPК), golyaeva@orel.vniispk.ru