

УДК 634.2:631.52

UDC 634.2:631.52

DOI 10.30679/2219-5335-2023-5-83-1-20

DOI 10.30679/2219-5335-2023-5-83-1-20

**ИССЛЕДОВАНИЕ
ФЕНОТИПИЧЕСКИХ
И ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ
ОТЕЧЕСТВЕННЫХ
СОРТОВ ЧЕРЕШНИ**

**STUDY
OF PHENOTYPICAL
AND GENETIC CHARACTERISTICS
OF DOMESTIC SWEET
CHERRY VARIETIES**

Заремук Римма Шамсудиновна
д-р с.-х. наук, профессор
заведующая лабораторией сортоизучения
и селекции косточковых культур
e-mail: zaremuk_rimma@mail.ru

Zaremuk Rimma Shamsudinovna
Dr. Sci. Agr., Professor
Head of Varieties Studying and Breeding
of Stone Fruit Crops Laboratory
e-mail: zaremuk_rimma@mail.ru

Доля Юлия Александровна
канд. с.-х. наук
старший научный сотрудник
лаборатории сортоизучения
и селекции косточковых культур
e-mail: skzniisiv2015@mail.ru

Dolya Yulia Aleksandrovna
Cand. Agr. Sci.
Senior Research Associate
of Variety study and Breeding
of Stone Fruit Crops Laboratory
e-mail: skzniisiv2015@mail.ru

Токмаков Сергей Вячеславович
канд. биол. наук
заведующий
селекционно-биотехнологической
лабораторией
e-mail: ad-a-m@mail.ru

Tokmakov Sergei Viacheslavovich
Cand. Biol. Sci.
Head of Breeding
and Biotechnological
Laboratory
e-mail: ad-a-m@mail.ru

Степанов Илья Владимирович
младший научный сотрудник
селекционно-биотехнологической
лаборатории
e-mail: ivstepanof@gmail.com

Stepanov Ilya Vladimirovich
Junior Research Associate
of Breeding and Biotechnological
Laboratory
e-mail: ivstepanof@gmail.com

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«Северо-Кавказский федеральный
научный центр садоводства,
виноградарства, виноделия»,
Краснодар, Россия*

*Federal State Budget
Scientific Institution
«North Caucasian Federal
Scientific Center of Horticulture,
Viticulture, Wine-making»,
Krasnodar, Russia*

Одной из задач при изучении генофонда плодовых культур является системная фенотипическая оценка образцов в коллекциях, изучение их генетического разнообразия. На сегодня для этого используются традиционные методы сортоизучения и ДНК-маркирование,

One of the tasks in the research of the gene pool of fruit crops is a systematic phenotypic assessment of samples in collections and the study of their genetic diversity. To date, traditional methods of varietal study and DNA marking are used for this purpose, which make it possible

позволяющие выделить доноры и источники с целью использования их в селекции, а также перспективные сорта для промышленного возделывания. Целью исследований была комплексная фенотипическая и генотипическая оценка, сортов и гибридов черешни отечественной селекции. Многолетняя фенотипическая оценка, проведенная на фоне нестабильных и стрессовых условиях вегетационного года, позволила выявить более пластичные сорта черешни – Кавказская улучшенная, Кавказская, Подарок лета, совмещающие признаки зимостойкости, засухоустойчивости, устойчивости к коккомикозу, урожайности. Одновременная оценка сортов черешни местной селекции на основе анализа полиморфизма микросателлитных локусов позволила установить генетические особенности и выполнить ДНК-паспортизацию. Для анализа полиморфизма исследуемых генотипов использовали 7 SSR-локусов, впервые идентифицированных и картированных в геноме черешни (Алая, Мадонна, Кавказская, Кавказская улучшенная, Красна девица, Мак, Подарок лета, Ясно солнышко, Лучезарная, Южная). Анализ полученных ДНК-фингерпринтов позволил установить, что все изученные сорта черешни обладают уникальным аллельным набором. Для ДНК-паспортизации сортов черешни рекомендованы наиболее полиморфные SSR-маркеры: EMPa018, EMPaS12, EMPa017, EMPa004, UCDCH17, UCDCH12 и UCDCH31. Выделены сорта черешни Мадонна (ранний), Подарок лета (средний) и Алая (поздний) источники комплекса адаптивных и продуктивных признаков, рекомендуемые для дальнейшей селекционной работы, а также для закладки новых насаждений черешни на юге страны.

Ключевые слова: ЧЕРЕШНЯ, СОРТ, ГИБРИД, ПРИЗНАК, АДАПТИВНОСТЬ, УРОЖАЙНОСТЬ, ПОЛИМОРФИЗМ, ДНК-ПАСПОРТИЗАЦИЯ, МИКРОСАТЕЛЛИТНЫЕ ДНК-МАРКЕРЫ

to identify donors and sources for breeding and promising varieties for industrial cultivation. The aim of the research was a comprehensive phenotypic and genotypic evaluation of varieties and hybrids of sweet cherries of domestic breeding. A long-term phenotypic assessment, carried out against the background of unstable and stressful conditions of the growing year, made it possible to identify more plastic varieties of sweet cherries Kavkazskaya uluchshennaya, Kavkazskaya, Podarok leta, combining the signs of winter hardiness, drought resistance, resistance to coccomycosis, and productivity. Simultaneous assessment of sweet cherry varieties of local breeding based on the analysis of polymorphism of microsatellite loci made it possible to establish genetic characteristics and perform DNA certification. To analyze the polymorphism of the studied genotypes, we used 7 SSR loci that were first identified and mapped in the sweet cherry genome (Alaya, Madonna, Kavkazskaya, Kavkazskaya uluchshennaya, Krasna devitsa, Mak, Podarok leta, Yasno solnyshko, Luchezarnaya, Yuzhnaya). Analysis of the obtained DNA fingerprints made it possible to establish that all the studied varieties of sweet cherries have a unique allelic set. For DNA certification of cherry varieties, the most polymorphic SSR markers are recommended: EMPa018, EMPaS12, EMPa017, EMPa004, UCDCH17, UCDCH12 and UCDCH31. Sweet cherry varieties Madonna (early), Podarok leta (middle) and Alaya (late) have been identified as sources of a complex of adaptive and productive traits recommended for further breeding work, as well as varieties that are for laying new cherry plantations in the south of the country.

Key words: SWEET CHERRY, VARIETY, HYBRID, TRAIT, ADAPTABILITY, PRODUCTIVITY, POLYMORPHISM, DNA CERTIFICATION, MICROSATELLITE DNA MARKERS

Введение. Черешня (*Prunus avium* L.) – ценная плодовая косточковая культура, лучшие сорта которой возделываются в основном в условиях южного региона, где погодные условия позволяют максимально реализовать ее биологический потенциал – устойчивость к абиотическим стрессовым факторам и доминирующим болезням, продуктивность и др. [1, 2].

Важной задачей в современной селекции черешни остается создание высокоадаптивных и урожайных сортов нового поколения, отвечающих требованиям интенсивного садоводства, прежде всего по признакам сдержанности роста дерева, совместимости с клоновыми подвоями, положительной реакции на новые элементы технологий, в первую очередь – современные типы формировок деревьев, плотные схемы посадок, что возможно при наличии у селекционеров обширного генофонда или коллекций, представленных сортами отечественной селекции, а также интродуцированными сортами и их всестороннего изучения [3-5].

В коллекции черешни СКФНЦСВВ насчитывается более 120 сортов различного эколого-географического происхождения, в том числе отечественные и местные, полученные путем направленных скрещиваний на основе признакового принципа подбора лучших родительских форм, а также интродуцированные сорта с ценными признаками для селекции.

На сегодня в государственном Реестре селекционных достижений РФ находится 14 сортов черешни селекции СКФНЦСВВ: Алая, Бархатная, Волшебница, Кавказская, Кавказская улучшенная, Контрастная, Краса Кубани, Краснодарская ранняя, Мак, Рубиновая Кубани, Сашенька, Утро Кубани, Южная, Ясно солнышко [6]. Государственное испытание проходят более 10 сортов.

Известно, что сорта черешни, созданные в местных экологических условиях, отличаются от зарубежных сортов более высокой устойчивостью к температурным стрессам, которые повторяются из года в год в период покоя и вегетации. Вместе с тем, в негативно меняющихся погодно-

климатических условиях адаптивность сортов снижается, соответственно не в полной мере реализуется биологический потенциал [7-9].

В последние десятилетия для возделывания черешни в садоводстве южного региона стали активно внедряться интенсивные технологии, которые вынуждают менять подходы как к выбору сортов для включения в гибридизацию, так и для промышленного регионального сортимента [2, 4, 10].

Не вызывает сомнений, что селекция черешни – сложный процесс, поскольку большинство признаков, присущих этой плодовой культуре, – устойчивость к доминирующим болезням, позднее вступление в плодоношение, слабая морозоустойчивость и зимостойкость, масса плода, урожайность и др., являются полигенными, а это в свою очередь ведет к необходимости подбора сортов в гибридизацию на основе многолетней фенотипической оценки сортов в полевых условиях. Слабая изученность генетической системы черешни, то есть при практическом отсутствии выделенных целевых генов важных признаков, тоже усложняет направленную селекцию и актуализирует работу по исследованию генетической структуры культуры [3, 11, 12].

Очевидно, что для повышения эффективности селекционного процесса и улучшения генотипа новых сортов черешни необходимо взаимодействие традиционных методов оценки по фенотипу и молекулярно-генетических, то есть усиление маркер-вспомогательной селекции, которая для плодовых культур в нашей стране применяется не в полной мере. Прежде всего, необходимо использование современных методов ДНК технологий, которые позволяют исследовать генетический потенциал плодовой культуры [11, 12].

Изучение генотипов плодовых культур осуществляется в основном путем фенотипической оценки на основе традиционных методов сортоизучения. Оценка фенотипа сорта базируется прежде всего на полевом методе исследований основных хозяйственно ценных признаков, которая дли-

тельна по времени и не всегда позволяет быстро выявить лучшие генотипы или родительские формы для направленных скрещиваний. Методом, дополняющим полевой метод оценки сорта, является ДНК-маркирование, причем более эффективными являются микросателлитные маркеры (SSR). Важнейшими свойствами данного типа маркеров, обеспечившими их широкое внедрение, являются кодоминантность, распределение по всему геному, относительная простота манипуляций и значительная аллельная изменчивость. Это обеспечивает доступность и высокую информативность SSR-маркеров [13-15].

В генетических исследованиях плодовых культур, в том числе и черешни, данный тип ДНК-маркеров используют при построении генетических карт и идентификации генов, в маркерной селекции, а также в работах по изучению генетического разнообразия и паспортизации сортов. В свое время для черешни был выполнен ряд исследований, направленных на идентификацию SSR-локусов, с последующим созданием фланкирующих локусы праймерных пар и выполнением их генетического картирования [13, 14, 16]. Наряду с этим, широко используется подход, основанный на проверке воспроизводимости маркеров, впервые идентифицированных у других видов рода *Prunus* L. для использования в генетических исследованиях черешни. Чаще всего для этого используются SSR-маркеры персика, для которого сегодня известно наибольшее количество данного типа маркеров среди видов рода *Prunus* L. Установлено, что SSR-маркеры персика обладают высоким уровнем воспроизводимости при анализе черешни [17]. Это обеспечивает их широкое использование в исследованиях по молекулярно-генетической идентификации, ДНК-паспортизации сортов черешни и изучению генетического разнообразия данной культуры в мире [18].

В генетических исследованиях отечественного генофонда черешни ранее успешно использовались различные типы мультилокусных ДНК-маркеров [15]. Однако SSR-маркеры, несмотря на высокий уровень

их информативности, на данный момент не имеют широкого распространения в исследованиях генетико-селекционного направления. Нарботок по данному направлению, особенно по таким косточковым культурам как черешня, вишня, слива и др., очень мало.

SSR маркеры были задействованы в изучении генофондов черешен из различных регионов: Турция [19], Австрия [18], Швеция, Норвегия [17], Сербия [20], Чехия [21], Франция, Бельгия, Венгрия, Испания, Иран, Румыния [22], Греция [23], Италия [24, 25], Латвия [26].

Недостаточность знаний по обозначенному направлению предполагает проведение комплексных исследований селекционеров и генетиков, являющихся актуальными и необходимыми. Знание хозяйственно ценных характеристик сортов позволяет выделить перспективные доноры признаков для дальнейшей селекции, а результаты генотипирования дают возможность подбора генетически удаленных сортов для скрещивания с целью как поддержания генетического разнообразия сортимента, так и достижения эффекта гетерозиса в первом поколении. В свою очередь полученные в ходе генотипирования ДНК-паспорта могут быть использованы для сортовой идентификации посадочного материала в качестве альтернативного подхода в апробации сортов на основе морфологических признаков. Так же на основе данных генотипирования части коллекции черешни планируется провести отбор наиболее эффективных ДНК-маркеров для проведения дальнейшей работы по оценке коллекции.

В связи с вышеизложенным, целью проведенных исследований была комплексная фенотипическая и генотипическая оценка сортов и гибридов черешни местной селекции.

В задачи исследований входила одновременная оценка хозяйственно ценных признаков местных сортов черешни в условиях Прикубанской зоны садоводства Краснодарского края в полевых условиях, а также их генотипическая оценка с использованием микросателлитных ДНК-маркеров,

выделенных для представителей рода *Prunus* L., в частности черешни (*Prunus avium* L.), а также выделение наиболее перспективных сортов с комплексом ценных и специфических признаков для селекционной работы и для расширения современного регионального сортимента.

Объекты и методы исследований. Исследования были проведены в АО ОПХ «Центральное» СКФНЦСВВ, на базе ЦКП «Исследовательско-селекционная генетическая коллекция садовых культур СКФНЦСВВ».

Объектом исследований были 10 сортов черешни: раннего срока созревания – Мадонна, Кавказская улучшенная (к), среднего – Кавказская (к), Красна девица, Подарок лета, Лучезарная, Ясно солнышко, Южная, позднего – Алая (к), Мак и 3 гибридные формы (I-13-42, I-3-59, 6-65) селекции СКФНЦСВВ.

Происхождение сортов представлено в таблице 1. Данные о происхождении отобранных для исследования элитных форм черешни отсутствуют, в связи чем одной из задач было установление их родства с сортами черешни, используемыми в селекционной работе.

Таблица 1 – Происхождение изученных сортов черешни (*Cerasus avium* L.)

Название сорта	Происхождение
Алая (к)	Мелитопольская чёрная х св. оп.
Лучезарная	Дрогана жёлтая х св. оп.
Южная	Надежная х Рамон Олива
Мак	Мелитопольская чёрная и Французская чёрная
Кавказская улучшенная (к)	Индукцированный клон сорта Кавказская
Кавказская (к)	Наполеон белая х вишня Анадольская
Красна девица	Дайбера чёрная х св. оп.
Подарок лета	Сашенька х св. оп.
Мадонна	Крупноплодная х св. оп.
Ясно солнышко	Крупноплодная х св. оп.

Основные учеты и наблюдения проведены по «Программе и методике сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (Орел, 1999) [27] и «Программе и методике селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур» (Орел, 1995) [28].

Для паспортизации из литературных источников были отобраны полиморфные перспективные SSR-маркеры, проявившие высокий уровень полиморфизма на выборках из зарубежной генплазмы. Отобрали семь SSR-маркеров: EMPa018, EMPaS12, EMPa017, EMPa004, UCDCH17, UCDCH12 и UCDCH31. Маркеры были мечены различными флуоресцентными метками (TAMRA, ROX, R6G и FAM) и, в соответствии с ожидаемыми размерами амплифицируемых продуктов, были разбиты на два мультиплекса (табл. 2).

Таблица 2 – Мультиплексные наборы и характеристики SSR-маркеров, отобранных для генотипирования сортов черешни различного происхождения

Локус	Мультиплекс	Флуорофор	Кол-во аллелей	Размер, п.о.
EMPa018	I	FAM	7	93-108
EMPaS12	I	R6G	4	139-149
EMPa017	I	TAMRA	2	243-245
EMPa004	I	ROX	5	181-192
UCDCH17	II	FAM	6	179-216
UCDCH12	II	R6G	7	175-195
UCDCH31	II	ROX	6	128-150

Экстракцию ДНК проводили из молодых листьев методом ЦТАБ [29]. В работе оценивали полиморфизм 7 SSR-локусов, впервые идентифицированных и картированных в геноме черешни.

ПЦР-смесь включала: 40-50 нг ДНК, 0,05 мМ dNTPs, 0,3 мкМ каждого праймера, 2,5 мкл 10xSE ПЦР-буфера (ООО «Сибэнзим»), 1 единицу активности Taq-ДНК полимеразы в общем объеме реакционной смеси 25 мкл.

Постановку ПЦР проводили по следующей программе: для начальной денатурации – 1 мин при 94 °С; следующие 35 циклов: 30 с – денатурация при 94 °С; 30 с – отжиг праймеров при температуре 58 °С; 30 с – синтез при 72 °С и финальный цикл – 5 мин синтеза при 72 °С.

Анализ размеров амплифицированных фрагментов проводили на автоматическом генетическом анализаторе Нанофор 05. Обработку данных осуществляли в программе GeneMarker 3.0.1.

Обсуждение результатов. Фенотипическая оценка сортов и гибридов черешни в полевых условиях предполагала изучение основных хозяйственно ценных признаков сортов на фоне негативного проявления погодных условий и ежегодных стрессовых факторов.

Оценка зимостойкости сортов черешни позволила выделить сорта с высокой засухоустойчивостью на уровне 4-5 баллов, свидетельствующих об устойчивости генеративных органов к резким перепадам температуры воздуха в период покоя и возвратным весенним заморозкам. Это, прежде всего, ранний сорт – Кавказская улучшенная, среднего срока созревания – Кавказская, Южная, Подарок лета, Лучезарная и гибрид 6-65, а также поздний сорт Мак (табл. 3).

Экстремальные погодные условия, складывающиеся уже в начале летнего периода (длительный период без осадков, температуры воздуха, достигающие в отдельные дни плюс 35-40 °С), когда у сортов черешни идет созревание плодов, с каждым годом все больше актуализируют необходимость усиления направления в селекции черешни на засухоустойчивость, соответственно выделение источников этого признака. На фоне неблагоприятных погодных условий были выделены более засухоустойчивые сорта черешни раннего срока созревания – Мадонна, Кавказская улучшенная, среднего – Кавказская, Подарок лета и новый гибрид 6-65 (см. табл. 3).

Таблица 3 – Основные хозяйственно ценные признаки сортов и гибридов черешни местной селекции в условиях Прикубанской зоны садоводства, 2019-2022 гг.

Сорт	Зимостойкость		Засухо- устойчивость	Урожайность		Устойчивость к коккомикозу
	оценка	балл	балл	кг/дер.	т/га	балл*
<i>раннего срока созревания</i>						
Мадонна	хорошая	4	5 (высокая)	50,0	21,0	2
Кавказская улучшенная (к)	высокая	5	5 (высокая)	40,0	16,5	3
<i>среднего срока созревания</i>						
Лучезарная	высокая	5	3 (средняя)	42,0	17,5	3
Южная	высокая	5	4 (средняя)	50,0	21,0	3
Подарок лета	высокая	5	5 (высокая)	40,0	16,5	4
Красна девица	средняя	3	3 (средняя)	45,0	19,0	4
Кавказская (к)	высокая	5	5 (высокая)	50,0	21,0	4
Ясно солнышко	средняя	3	3 (средняя)	45,0	19,0	4
<i>позднего срока созревания</i>						
Мак	высокая	5	4 (средняя)	40,0	16,5	3
Алая (к)	хорошая	4	5 (высокая)	55,0	23,0	3
<i>гибриды</i>						
I-13-42	хорошая	4	3 (средняя)	35,0	14,5	3
I-3-59	хорошая	4	4 (средняя)	40,0	16,5	4
6-65	высокая	5	4 (средняя)	42,0	17,5	4
НСР_{0,5}	–	0,6	0,6	1,7	1,1	0,5
Среднее:	–	4,4	4,2	44,2	18,4	3,4

*Примечание: баллы: 1 – единичные пятна; 2 – поражено 10 % листьев; 3 – поражено до 25 % листьев; 4 – поражено до 50 % листьев; 5 – поражено свыше 50 % листьев.

Целый комплекс доминирующих болезней черешни в южном регионе, и прежде всего, коккомикоз, повышает актуальность направления селекции на создание высокоустойчивых сортов разного срока созревания.

Необходимо констатировать, что на сегодня иммунные к коккомикозу, монилиозу, клостероспориозу местные сорта черешни отсутствуют. Вместе с тем оценка сортов в полевых условиях позволяет определить более устойчивые к болезням сорта. Так, выделены сорта с высокой устойчивостью к коккомикозу – наиболее вредоносному для черешни заболеванию в условиях южного садоводства. К ним отнесены сорта с меньшим на уровне 2-3 баллов повреждением листовой пластинки – раннего срока Ма-

донна, Кавказская улучшенная (к), среднего срока созревания – Лучезарная, Южная, позднего срока созревания – Мак, Алая (к) и гибрид I-13-42 (см. табл. 3).

Оценка продуктивности сортов черешни изученных сортов позволила определить, что средняя урожайность ранних сортов черешни составила 18,7 т/га, несколько выше она была у сортов среднего срока (19,0 т/га) и поздних (19,8 т/га). Установлена сортовая специфичность по урожайности: высокая урожайность в пределах 50,0-55,0 кг с дерева или 21,0-23,0 т/га формируется у раннего сорта Мадонна, у средних сортов – Кавказская и Южная и позднего – Алая. Несколько ниже урожайность (16,5 т/га) была у сортов Кавказская и Подарок лета и сорта Лучезарная, с урожайностью 17,5 т/га. (см. табл. 3).

Для южных сортов черешни важным показателем является качество плодов, определяющееся целым рядом биохимических и товарных показателей: размер и масса плода, содержание сахаров и витаминов, вкусовые качества и т.д. По полученным данным крупными плодами массой от 7,8 до 8,0 г характеризуются сорта черешни Алая, Подарок лета, Мак и Мадонна (табл. 4).

Определены сорта черешни с ежегодно высоким стабильным содержанием сахаров в плодах на уровне 12 % и более: Кавказская, Подарок лета, Алая и гибриды I-3-59, 6-65. Содержание растворимых сухих веществ колебалось от 17,5 до 18,6 % в плодах сортов Подарок лета, Алая, Кавказская улучшенная. Достаточно высокой дегустационной оценкой свежих плодов на уровне 4,8 балла характеризуются средние сорта – Подарок лета, Южная и поздние – Алая, Мак (см. табл. 4).

Интенсивной окраской плодов или высоким содержанием антоцианов отмечены сорта Мадонна (403,8 мг/100 г), Кавказская (231,4 мг/100 г) и Кавказская улучшенная (240,0 мг/100 г). Сравнительно высоким содержанием витамина Р характеризовались сорта Красна девица

(69,0 мг/100 г), Ясно солнышко (70,6 мг/100 г) и Алая (87,3 мг/100 г). Хорошим накоплением витамина С – Кавказская улучшенная (14,5 мг/100 г), Подарок лета (12,2 мг/100 г) и Кавказская (к) (11,2 мг/100 г).

Таблица 4 – Товарные и биохимические показатели плодов черешни сортов и гибридов местной селекции, 2019-2022 гг.

Сорт	Масса плода, г	Сахара, %	РВС*, %	Антоцианы, мг/100 г	Вит. Р, мг/100 г	Вит. С, мг/100 г	Дегуста- ционная оценка, балл
<i>раннего срока созревания</i>							
Кавказская улучшенная (к)	7,0	11,4	17,5	240,0	64,2	14,5	4,7
Мадонна	7,8	11,6	16,8	403,8	57,4	9,9	4,7
<i>среднего срока созревания</i>							
Кавказская (к)	6,5	12,0	17,2	231,4	51,4	11,2	4,8
Лучезарная	7,5	11,4	16,0	(жёлтая)	68,9	7,3	4,5
Южная	7,5	10,9	15,8	157,5	48,0	10,0	4,8
Подарок лета	8,0	12,6	18,6	94,7	66,7	12,2	4,8
Красна девица	7,0	11,0	16,0	170,5	69,0	7,3	4,6
Ясно солнышко	6,8	10,2	15,5	(жёлтая)	70,6	6,5	4,5
<i>позднего срока созревания</i>							
Мак	8,0	10,7	15,8	189,0	67,5	8,5	4,8
Алая (к)	8,0	14,8	21,5	79,6	87,3	6,0	4,8
<i>гибриды</i>							
I-13-42	6,0	10,5	16,2	(жёлтая)	59,0	6,3	4,7
I-3-59	6,3	12,3	15,6	112,5	63,1	8,1	4,5
6-65	7,2	12,0	17,1	134,0	51,0	6,8	4,6
НСР_{0,5}	0,6	0,8	0,9	7,4	2,3	1,0	0,3
Среднее:	7,2	11,6	16,9	169,2	63,4	8,8	4,7

*Примечание: РВС – растворимые сухие вещества (%).

Наряду с оценкой сортов черешни по фенотипу был проведен фрагментный ДНК-анализ полиморфизма SSR-локусов сортов черешни и получены ДНК-паспорта. Генотипирование проводилось у 8 сортов черешни и 3 элитных форм. В выборку были включены 3 перспективных высокоурожайных сорта различного срока созревания: Мадонна, Алая и Подарок лета. ДНК-паспорта образцов черешни представлены в таблицах 5 и 6. Полученные ДНК-папорта уникальны для каждого сорта и позволяют с высокой

долей достоверности осуществлять идентификацию сортового материала в случае возникновения сомнений в его происхождении.

Таблица 5 – ДНК-паспорта отечественных сортов черешни по четырем локусам – EMPa018, EMPaS12, EMPa017 и EMPa004

Сорт \ Локус	EMPa018		EMPaS12		EMPa017		EMPa004	
Лучезарная	93	106	139	147	243	245	181	183
Мадонна	100	106	147	149	243	243	183	189
Алая	93	93	141	149	243	243	192	192
Подарок лета	93	93	139	139	243	243	181	183
Южная	106	108	139	141	243	243	181	183
Мак	106	106	147	147	243	245	183	189
I-13-42	102	106	139	147	243	243	183	189
I-3-59	106	106	139	141	243	245	189	192
Ясно солнышко	97	106	139	147	243	243	181	189
Красна девица	93	106	139	139	243	243	192	192
6-65	93	95	139	147	243	243	187	189

Таблица 6 – ДНК-паспорта отечественных сортов черешни по трем локусам – UCDCH17, UCDCH12 и UCDCH31

Сорт \ Локус	UCDCH17		UCDCH12		UCDCH31	
Лучезарная	187	199	175	179	128	128
Мадонна	187	187	179	181	128	150
Алая	187	190	181	195	134	136
Подарок лета	187	199	175	179	128	137
Южная	187	216	179	193	128	128
Мак	187	187	175	179	128	128
I-13-42	187	187	175	187	128	146
I-3-59	187	199	179	181	134	136
Ясно солнышко	187	205	175	175	128	146
Красна девица	187	205	175	195	128	146
6-65	179	187	175	189	128	146

По данным фрагментного анализа была проведена кластеризация образцов методом UPGMA. Получена дендрограмма, отображающая родство изученных образцов (рис.). Выявлены три основных кластера на дендрограмме. Первый кластер включал сорт Алая и I-3-59. Второй кластер состоял из сортов Ясно солнышко и Красна девица, а также включал гибриды 6-65 и I-13-42. Третий кластер состоял из сортов Мадонна, Мак, Лучезарная, Подарок лета и Южная. Большинство задействованных в работе сортов

происходят от свободного опыления таких сортов, как Мелитопольская черная, Дрогана желтая, Крупноплодная, Дайбера черная и Сашенька. Так как один из родителей большинства сортов неизвестен, интерпретация результатов кластеризации, исходя из родословной сортов, затруднительна.

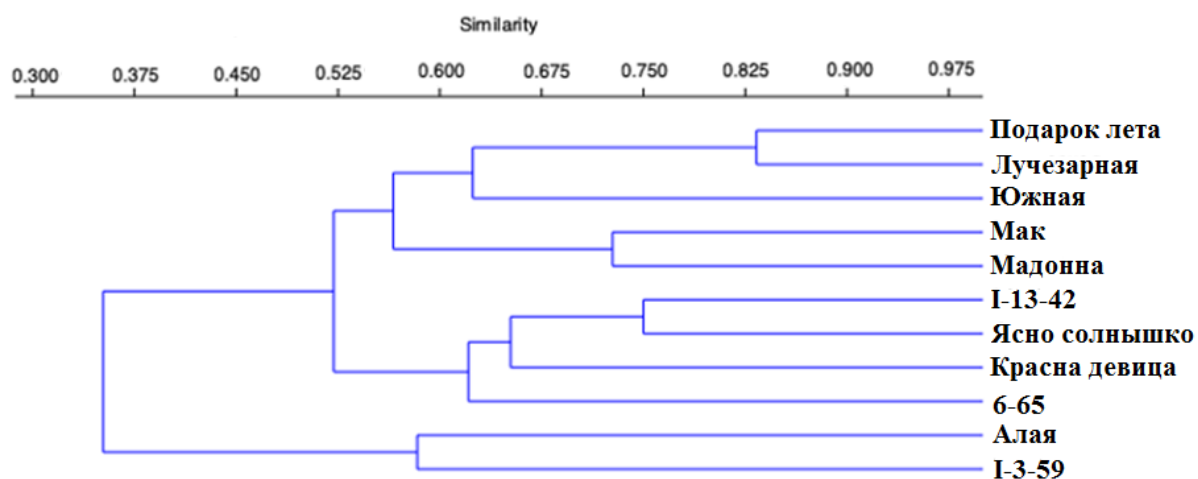


Рис. Результаты кластерного анализа образцов черешни

Три сорта – Алая, Мак и Подарок лета в родословной имеют общего предка – сорт Мелитопольская черная. У черешен Алая и Мак сорт Мелитопольская черная выступает в качестве одной из родительских форм. Более того, вторым родителем черешни Мак является Французская черная, полученная от свободного опыления Мелитопольской черной. Подарок лета является потомком Мелитопольской черной во втором поколении, так как его родительский сорт Сашенька получен от свободного опыления Мелитопольской черной. Однако, несмотря на общность происхождения указанных сортов, в дендрограмме данные сорта не образуют общей группы и распределены между вторым и третьим кластерами.

В свою очередь, Ясно солнышко и Мадонна получены от свободного опыления Крупноплодной, однако так же расположены в разных кластерах.

Сведения о генетических дистанциях позволяют судить о разнообразии выборки черешни на генетическом уровне с целью прогнозирования возможных комбинаций скрещивания генетически удаленных сортов для

достижения эффекта гетерозиса в первом поколении. Так, три перспективных сорта распределены между двумя установленными кластерами: сорт Алая расположен в третьем кластере, сорта Мадонна и Подарок лета также расположены в третьем. Таким образом, перспективными представляются комбинации скрещивания Алая х Мадонна и Алая х Подарок лета (рис.).

SSR-локусы были оценены по ряду характеристик: Na – число аллелей, Ne – эффективное число аллелей, I – индекс разнообразия Шеннона, Ho – наблюдаемая гетерозиготность, He – ожидаемая гетерозиготность, F – индекс фиксации (табл. 7).

Таблица 7 – Характеристика использованных в исследованиях маркеров для оценки сортов черешни

Характеристики	EMPa018	EMPaS12	EMPa017	EMPa004	UCDCH17	UCDCH12	UCDCH31
Na	7	4	2	5	6	7	6
Ne	3,143	2,988	1,308	4,246	2,283	4,172	2,847
I	1,425	1,212	0,398	1,496	1,199	1,633	1,358
Ho	0,636	0,727	0,273	0,818	0,727	0,909	0,727
He	0,682	0,665	0,236	0,764	0,562	0,760	0,649
F	0,067	-0,093	-0,158	-0,070	-0,294	-0,196	-0,121

Число аллелей в зависимости от локуса варьировало от 2 (EMPa017) до 7 (EMPa018 и UCDCH12), при среднем значении 5,29 аллелей на локус. Значение эффективного числа аллелей варьирует от 1,308 (EMPa017) до 4,246 (EMPa004). По показателю I индекса разнообразия наибольшее значение установлено у маркера UCDCH12. Таким образом, маркеры EMPa004, UCDCH12 и EMPa018 являются наиболее приоритетными для дальнейшего использования в генотипировании местного генофонда черешни. Значения ожидаемой гетерозиготности по всем локусам, за исключением EMPa018, были ниже значений наблюдаемой гетерозиготности, что отразилось на отрицательных значениях индекса фиксации. Высокий уровень наблюдаемой гетерозиготности характерен для генофондов перекрестно опыленных культур.

Выводы. В результате проведенной фенотипической оценки отечественных сортов черешни установлено, что высокой зимостойкостью, засухоустойчивостью, устойчивостью к коккомикозу характеризуются сорта отечественной селекции раннего срока созревания – Кавказская улучшенная; среднего срока – Кавказская, Подарок лета. Высокой урожайностью и качеством плодов характеризуются сорта раннего срока созревания Мадонна, среднего – Подарок лета и позднего – Алая.

Генотипирование сортов черешни позволило получить уникальные ДНК-паспорта позволяющие проводить идентификацию сорта. Оценка генетических дистанций сортов не выявила закономерностей распределения сортов по кластерам, исходя из имеющихся сведений об их происхождении. Исходя из сочетания хозяйственно ценных признаков и генетических дистанций изученных сортов перспективными представляются комбинации скрещивания сорта Алая с сортами, представленными в третьем кластере, в частности сортами Подарок лета и Мадонна. В ходе оценки характеристик, использованных в работе SSR маркеров, были выделены три наиболее эффективных для генотипирования генофонда черешни маркера – EMPa004, UCDSH12 и EMPa018.

Литература

1. Лукичева Л.А., Черненький Л.А. Морозостойкость и засухоустойчивость сортов и селекционных форм черешни в условиях степного Крыма // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2020. № 85. С. 124-129. <https://doi.org/10.21515/1999-1703-85-124-129>
2. Заремук Р.Ш., Доля Ю.А., Копнина Т.А. Биоморфологические особенности формирования и реализации потенциала продуктивности у сортов косточковых культур в условиях южного садоводства // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55. № 3. С. 573-587. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2020.3.573rus>
3. Еремина О.В. Генеалогический анализ и выделение доноров и источников селекционно ценных признаков из генофонда черешни (обзор) // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2018. № 179 (3). 302-314. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2018-3-302-314>
4. Ivanenko E.N., Menshutina T.V. The productivity potential of black cherry varieties when growing in the arid // E3S Web of Conferences. 2021. Vol. 254. 01001. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125401001>

5. Upadysheva G., Kulikov I., Medvedev S., Mertvishcheva M., Motyleva S. Biochemical composition of sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit depending on the scion-stock combinations // Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences. 2018. Vol. 12(1). P. 533-538. <https://doi.org/10.5219/923>
6. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. «Сорта растений» (официальное издание). М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2022. 719 с. [Реестр на допуск 2022.pdf \(gossortrf.ru\)](https://gossortrf.ru)
7. Еремин Г.В. Выявление генетических связей между видами рода *Prunus* L. При их использовании в селекции косточковых культур // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2018. 179(3). С. 250-258. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2018-3-250-258/>
8. Fadón E., Rodrigo J. Unveiling winter dormancy through empirical experiments // Environmental and experimental Botany. Vol. 152. 2018. P. 28-36. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.11.006>
9. Götz K.-P., J. Naher, Fettke J., Chmielewski F.-M. Changes of proteins during dormancy and bud development of sweet cherry (*Prunus avium* L.) // Scientia Horticulturae 2018. Vol. 239. P. 41-49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.016>
10. Гусейнова Б., Дадагаджиевич А.М., Мусаева Р.Т. Пищевая ценность интродуцированных сортов черешни, выращиваемых в условиях предгорной плодовой зоны Дагестана // Health, Food & Biotechnology. 2022. 4(1). С. 34-43. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i1.s130>
11. Farsad A., Esna-Ashari M. Genetic diversity of some Iranian sweet cherry (*Prunus avium*) cultivars using microsatellite markers and morphological traits // Cytology and Genetics. 2016. Vol. 50. P. 8-19. <https://doi.org/10.3103/S0095452716010059>
12. Reim S., Schiffler J., Braun-Lüllemann A., Schuster M., Flachowsky H., Höfer M. Genetic and Pomological Determination of the Trueness-to-Type of Sweet Cherry Cultivars in the German National Fruit Genebank // Plants. 2023. Vol. 12(1). 205. <https://doi.org/10.3390/plants12010205>
13. Супрун И.И., Балапанов И.М., Касумова Ф.Х.Г. Идентификация аллельного состава гена самонесовместимости у сортов черешни Республики Дагестан с использованием молекулярно-генетического анализа // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. 2015. № 2. С. 33-35. <https://elibrary.ru/item.asp?id=23329098>
14. Супрун И.И., Алехина Е.М., Токмаков С.В. Использование молекулярно-генетического анализа и фенотипической оценки для определения совместимости сортов черешни при опылении // Садоводство и виноградарство. 2015. № 6. С. 35-39. <https://elibrary.ru/item.asp?id=25066342>
15. Щеглов С.Н., Ульяновская Е.В., Токмаков С.В., Чернуцкая Е.А., Балапанов И.М. Оценка генетического разнообразия представителей рода *Malus* Mill. с использованием ДНК-анализа и статистических методов [Электронный ресурс] // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2022. № 76(4). С. 1-13. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/22/04/01.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2022-4-76-1-13 (дата обращения: 21.07.2023).
16. Супрун И.И., Токмаков С.В., Ильницкая Е.Т., Степанов И.В., Балапанов И.М. ДНК-фингерпринтинг сортов черешни селекции СКЗНИИСиВ с использованием анализа полиморфизма микросателлитных локусов // Садоводство и виноградарство. 2014. № 2. С. 24-27. <https://elibrary.ru/item.asp?id=21503970>
17. Barreneche T. et al. SSR-based analysis of genetic diversity and structure of sweet cherry (*Prunus avium* L.) from 19 countries in Europe // Plants. 2021. Vol. 10(10). 1983. <https://doi.org/10.3390/plants10101983>

18. Schüller E., Fernández F. F., Antanaviciute L., Anhalt-Brüderl U., Spornberger A., Forneck A. Autochthonous Austrian varieties of *Prunus avium* L. Represent a regional gene pool, assessed using SSR and AFLP markers // Genes. 2021. Vol. 12 (3). 322. <https://doi.org/10.3390/genes12030322>
19. Eken B. U., Kirdök E., Velioğlu E., Çiftçi Y. Ö. Assessment of genetic variation of natural populations of wild cherry (*Prunus avium* L.) via SSR markers // Turkish Journal of Botany. 2022. Vol. 46 (1). P. 14-25. <https://doi.org/10.3906/bot-2111-16>
20. Krmpot T., Radoš L., Vokurka A. Genetic characterisation of autochthonous sweet cherry genotypes (*Prunus avium* L.) using SSR markers // Genetika. 2020. Vol. 52 (1). P. 43-53. <http://dx.doi.org/10.2298/GENSR2001043K>
21. Sharma K., Xuan H., Sedláč P. Assessment of genetic diversity of Czech sweet cherry cultivars using microsatellite markers // Biochemical Systematics and Ecology. 2015. Vol. 63. P. 6-12. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1235.9>
22. Mariette S., Tavaud M., Arunyawat U., Capdeville G., Millan M., Salin F. Population structure and genetic bottleneck in sweet cherry estimated with SSRs and the gametophytic self-incompatibility locus // BMC Genetics. 2010. Vol. 11. 77. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2156-11-77>
23. Ganopoulos I. V., Kazantzis K., Chatzicharisis I., Karayiannis I., Tsiftaris A.S. Genetic diversity, structure and fruit trait associations in Greek sweet cherry cultivars using microsatellite based (SSR/ISSR) and morpho-physiological markers // Euphytica. 2011. Vol. 181. P. 237-251. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0416-z>
24. Marchese A., Giovannini D., Leone A., Mafra R., Palasciano M., Cantini C., Marra F. P. S-genotype identification, genetic diversity and structure analysis of Italian sweet cherry germplasm // Tree Genetics & Genomes. 2017. Vol. 13. 93. <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1176-2>
25. Muccillo L., Colantuoni V., Sciarrillo R., Baiamonte G., Salerno G., Marziano M., Guarino C. Molecular and environmental analysis of Campania (Italy) sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars for biocultural refugia identification and conservation // Scientific Reports. 2019. Vol. 9 (1). 6796. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43226-2>
26. Stanys V., Baniulis D., Morkunaite-Haimi S., Siksnianiene J. B., Frercks B., Gelvonauskiene D., Siksnianas T. Characterising the genetic diversity of Lithuanian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using SSR markers // Scientia Horticulturae. 2012. Vol. 142. P. 136-142. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2012.05.011>
27. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур // Под ред. Седова Е.Н., Огольцовой Т.П. Орел: ВНИИСПК. 1999. 257 с.
28. Программа и методика селекции плодовых, ягодных и орехоплодных культур // Под ред. Седова Е.Н. Орел: ВНИИСПК. 1995. 351 с.
29. Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // Nucleic Acids Research. 1980. Vol. 10. P. 4321-4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321

References

1. Loukicheva L.A., Chernenkii L.A. Frost and drought resistance of cultivars and breeding forms of sweet cherries under the conditions of the steppe Crimea // Proceedings of the Kuban State Agrarian University. 2020. № 85. P. 124-129. <https://doi.org/10.21515/1999-1703-85-124-129> (in Russian)
2. Zaremuk R.Sh., Dolya Y.A., Kopnina T.A. Productivity potential of drup fruit varieties – biomorphological features of formation and realization under the climatic conditions of south Russia // Agricultural biology. 2020. Vol. 55, № 3. P. 573-587. <https://doi.org/10.15389/agrobiol.2020.3.573rus> (in Russian)

3. Eremina O.V. Genealogical analysis and identification of donors and sources of valuable breeding traits in the sweet cherry gene pool (overview) // Proceedings on applied botany, genetics and breeding. 2018. Vol. 179(3). P. 302-314. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2018-3-302-314> (in Russian)
4. Ivanenko E.N., Menshutina T.V. The productivity potential of black cherry varieties when growing in the arid // E3S Web of Conferences. 2021. Vol. 254. 01001. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202125401001>
5. Upadysheva G., Kulikov I., Medvedev S., Mertvishcheva M., Motyleva S. Biochemical composition of sweet cherry (*Prunus avium* L.) fruit depending on the scion-stock combinations // Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences. 2018. Vol. 12(1). P. 533-538. <https://doi.org/10.5219/923>
6. State register of breeding achievements approved for use. Vol.1. «Plant varieties» (official publication). M.: FGBNU «Rosinformagrotex», 2022. 719 p. [2022.pdf \(gossortrf.ru\)](https://gossortrf.ru/2022.pdf)
7. Eremin G.V. Detection of genetic relations between species in the genus *Prunus* L. when using them in breeding of stone fruit crops // Proceedings on applied botany, genetics and breeding. 2018. Vol. 179(3). P. 250-258. <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2018-3-250-258> (in Russian)
8. Fadón E., Rodrigo J. Unveiling winter dormancy through empirical experiments // Environmental and experimental Botany. Vol. 152. 2018. P. 28-36. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.11.006>
9. Götz K.-P., J. Naher, Fettke J., Chmielewski F.-M. Changes of proteins during dormancy and bud development of sweet cherry (*Prunus avium* L.) // Scientia Horticulturae 2018. Vol. 239. P. 41-49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2018.05.016>
10. Guseinova B.M., Abdulgamidov M.D., Musaeva R.T. Nutritional Value of Introduced Cherry Varieties in Conditions of Foothill Fruit Zone of Dagestan // Health, Food & Biotechnology. 2022. 4(1). P. 34-43. <https://doi.org/10.36107/hfb.2022.i1.s130> (in Russian)
11. Farsad A., Esna-Ashari M. Genetic diversity of some Iranian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using microsatellite markers and morphological traits // Cytology and Genetics. 2016. Vol. 50. P. 8-19. <https://doi.org/10.3103/S0095452716010059>
12. Reim S., Schiffler J., Braun-Lüllemann A., Schuster M., Flachowsky H., Höfer M. Genetic and Pomological Determination of the Trueness-to-Type of Sweet Cherry Cultivars in the German National Fruit Genebank // Plants. 2023. Vol. 12(1). 205. <https://doi.org/10.3390/plants12010205>
13. Suprun I.I., Balapanov I.M., Kasoumova F.X.G. Identification of allelic composition of self-incompatibility in bird-cherry varieties in the Republic of Dagestan by the use of molecular-genetic analysis // Bulletin of the Russian Agricultural Science. 2015. № 2. P. 33-35. <https://elibrary.ru/item.asp?id=23329098> (in Russian)
14. Suprun I.I., Alehina E.M., Tokmakov S.V. Using of molecular genetic analysis and phenotypic evaluation for determination of pollination compatibility of sweet cherry varieties // Horticulture and viticulture. 2015. № 6. P. 35-39. <https://elibrary.ru/item.asp?id=25066342> (in Russian)
15. Shcheglov S.N., Ulyanovskaya E.V., Tokmakov S.V., Chernoytskaya E.A., Balapanov I. M. Assessment of the genetic diversity of representatives of the genus *Malus* mill. using DNA analysis and statistical methods // Fruit growing and viticulture of South Russia. 2022. № 76 (4). P. 1-13. <https://doi.org/10.30679/2219-5335-2022-4-76-1-13> (in Russian)
16. Suprun I.I., Tokmakov S.V., Ilnitskaya E.T., Stepanov I.V., Balapanov I.M. DNA-fingerprinting of sweet cherry cultivars bred in the NCZSRIH&V using analysis of polymorphism of microsatellite loci // Horticulture and viticulture. 2014. № 2. P. 24-27. <https://elibrary.ru/item.asp?id=21503970> (in Russian)

17. Barreneche T. et al. SSR-based analysis of genetic diversity and structure of sweet cherry (*Prunus avium* L.) from 19 countries in Europe // Plants. 2021. Vol. 10(10). 1983. <https://doi.org/10.3390/plants10101983>
18. Schüller E., Fernández F. F., Antanaviciute L., Anhalt-Brüderl U., Spornberger A., Forneck A. Autochthonous Austrian varieties of *Prunus avium* L. Represent a regional gene pool, assessed using SSR and AFLP markers // Genes. 2021. Vol. 12 (3). 322. <https://doi.org/10.3390/genes12030322>
19. Eken B. U., Kirdök E., Velioglu E., Çiftçi Y. Ö. Assessment of genetic variation of natural populations of wild cherry (*Prunus avium* L.) via SSR markers // Turkish Journal of Botany. 2022. Vol. 46 (1). P. 14-25. <https://doi.org/10.3906/bot-2111-16>
20. Krmpot T., Radoš L., Vokurka A. Genetic characterisation of autochthonous sweet cherry genotypes (*Prunus avium* L.) using SSR markers // Genetika. 2020. Vol. 52 (1). P. 43-53. <http://dx.doi.org/10.2298/GENSR2001043K>
21. Sharma K., Xuan H., Sedlák P. Assessment of genetic diversity of Czech sweet cherry cultivars using microsatellite markers // Biochemical Systematics and Ecology. 2015. Vol. 63. P. 6-12. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2019.1235.9>
22. Mariette S., Tavaud M., Arunyawat U., Capdeville G., Millan M., Salin F. Population structure and genetic bottleneck in sweet cherry estimated with SSRs and the gametophytic self-incompatibility locus // BMC Genetics. 2010. Vol. 11. 77. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2156-11-77>
23. Ganopoulos I.V., Kazantzis K., Chatzicharisis I., Karayiannis I., Tsaftaris A.S. Genetic diversity, structure and fruit trait associations in Greek sweet cherry cultivars using microsatellite based (SSR/ISSR) and morpho-physiological markers // Euphytica. 2011. Vol. 181. P. 237-251. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0416-z>
24. Marchese A., Giovannini D., Leone A., Mafrica R., Palasciano M., Cantini C., Marra F. P. S-genotype identification, genetic diversity and structure analysis of Italian sweet cherry germplasm // Tree Genetics & Genomes. 2017. Vol. 13. 93. <https://doi.org/10.1007/s11295-017-1176-2>
25. Muccillo L., Colantuoni V., Sciarrillo R., Baiamonte G., Salerno G., Marziano M., Guarino C. Molecular and environmental analysis of Campania (Italy) sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars for biocultural refugia identification and conservation // Scientific Reports. 2019. Vol. 9 (1). 6796. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43226-2>
26. Stanys V., Baniulis D., Morkunaite-Haimi S., Siksnianiene J. B., Frercks B., Gelvonauskiene D., Siksnianas T. Characterising the genetic diversity of Lithuanian sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using SSR markers // Scientia Horticulturae. 2012. Vol. 142. P. 136-142. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2012.05.011>
27. Program and methods of variety study of fruit, berry and nut crops. Orel: VNIISPK, 1999. 257 p. (in Russian)
28. Program and methodology of fruit, berry and nut crops breeding. Orel: VNIISPK, 1995. 351 p. (in Russian)
29. Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // Nucleic Acids Research. 1980. Vol. 10. P. 4321-4325. DOI: 10.1093/nar/8.19.4321