

РЕЗУЛЬТАТЫ МАРКЕР-ВСПОМОГАТЕЛЬНОЙ СЕЛЕКЦИИ ГРУШИ В БЕЛАРУСИ

Т. Н. МАРЦИНКЕВИЧ¹, Т. А. ГАШЕНКО¹, О. А. ЯКИМОВИЧ¹,
Ю. Г. КОНДРАТЕНОК¹, А. Н. РЫМКО²

¹РУП «Институт плодоводства»,
ул. Ковалёва, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,
e-mail: 87martany@gmail.com

²ООО «АртБиоТех»,
ул. Купревича, 1, корп. 3, каб. 337, г. Минск, 220084, Беларусь,
e-mail: info@qpcr.by

АННОТАЦИЯ

ДНК-маркеры являются альтернативным классическому отбору сортов и гибридов по хозяйственно ценным признакам методом селекции. В настоящей статье представлены результаты использования одной из методик маркер-вспомогательной селекции при идентификации национальной коллекции груши в Республике Беларусь. Получены генетические профили 47 коллекционных образцов груши с помощью рекомендованного EDPGR набора маркеров, способных давать сравнимую информацию, получаемую в других зарубежных лабораториях, в целях более эффективной оценки белорусского генофонда, охраны сортов и обмена данными по всему миру в согласованном порядке. Маркеры сгруппированы в мультиплексные наборы по 2 и по 3 для повышения эффективности выполнения генотипирования за счет одновременного анализа по нескольким локусам и проведении фрагментного анализа. С помощью кластерного анализа установлены внутривидовые связи родства у изучаемых сортов груши. Составлена дендрограмма генетического сходства изучаемых сортов.

Ключевые слова: груша, коллекция, маркер-вспомогательная селекция, EDPGR-маркеры, молекулярно-генетические формулы, Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

Ценнейшим резервом для получения высокопродуктивных и экологически стабильных сортов, обеспечивающих получение качественной безопасной продукции, являются банки генетических ресурсов растений, в нашем случае – это коллекции плодовых культур. В Республике Беларусь самая крупная коллекция плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда сосредоточена в РУП «Институт плодоводства», является объектом национального достояния, включенным в государственный реестр сельскохозяйственных растений [1].

Требования новых интенсивных технологий к сортам возрастают, а традиционная селекция из-за длительности процесса не успевает за их ростом. В настоящее время создание сорта, сочетающего в себе высокий биологический потенциал, качество плодов и устойчивость к неблагоприятным биотическим и абиотическим факторам, невозможно без новых эффективных биотехнологических подходов. Одним из таких является маркер-вспомогательная селекция, которая основывается на идентификации генов, определяющих тот или иной признак, при помощи специфических маркеров [2].

Обнаружение ассоциаций «маркер – признак» для груши стало возможным после проведенного секвенирования нескольких геномов, а именно *P. communis* d'Anjou draft Genome v1.0; *P. pyrifolia* Cuiguan Genome v1.0; *P. pyrifolia* Genome v1.0; *P. ussuriensis* × *communis* Genome v1.0; *P. betulifolia* Genome v1.0; *P. communis* Bartlett DH Genome v2.0; *P. bretshneideri* DangshanSuli Genome Assembly v1.1; *P. communis* Genome v1.0 [3].

Полученная информация о геноме груши позволила разработать генетические маркеры и генетические карты для идентификации генотипов. Самыми первыми маркерными системами, пригодными для целей идентификации сортов, были маркеры типа RFLP, RAPD, ISSR, AFLP [4]. С использованием 120 RAPD-маркеров в 2001 г. были созданы первые генетические карты для сортов японской груши Kinchaku и Kosui и идентифицированы 18 групп сцепления [5]. Но данные типы маркеров с течением времени становились неудобными.

На смену вышесказанным пришли SSR-маркеры (simple sequence repeat), охватывающие повторы простых последовательностей ДНК. Данный тип стал популярным по причине того, что SSR-локусы распределены по всему геному, высокополиморфны, кодоминантны, их анализ обеспечивает достоверную воспроизводимость результатов. То есть данный тип маркеров охватывает не анонимные последовательности, а известные участки генома, с четкой локализацией на генетической карте. Основное преимущество SSR-маркеров в том, что многие из них имеют сайты связывания в геноме не только того вида, для которого они были созданы, но и в геноме близкородственных видов. Это позволяет успешно использовать их для сортовой идентификации и паспортизации растений [6–10].

Примером успешного применения микросателлитных маркеров служат исследования Jasna Senic с соавторами для оценки генетического полиморфизма 94 образцов европейской коллекции груши, произрастающей в Швеции. В результате были выявлены сорта-синонимы, к примеру, известный сорт Red Clapp's Favorite существует под названием Clapp's Favorite, а сорт Svanhalsar оказался идентичным Windsor [11].

Восточноазиатские исследователи Lu Bao, Kunsong Chen, Toshiya Yamamoto и другие использовали SSR-маркеры для оценки генетического разнообразия и родства сортов *Pyrus L.*, произрастающих в Восточной Азии. Всего было обнаружено 168 предполагаемых локусов. Анализ филогенетического дерева показал, что китайские песчаные груши (*P. pyrifolia*) встречались в четырех кластерах из десяти. В трех из этих четырех групп песчаные груши были вместе с китайскими белыми, а одну, отдельно, заняли японские. Это в очередной раз подтвердило информацию, полученную другими авторами, о широком генетическом разнообразии китайской песчаной груши [12].

Так, анализ литературных данных показал, что буквально за 10 лет от момента секвенирования генома груши был достигнут значительный прогресс в молекулярной генетике и, соответственно, число созданных молекулярных маркеров стало огромным. И перед генетиками и селекционерами возникла новая проблема. Для обмена информацией и совместной работы был необходим общий универсальный набор маркеров. В связи с этим для скрининга образцов груши участниками Европейской программы сотрудничества в области генетических ресурсов растений (EDPGR) был выбран стандартный набор из 17 SSR-маркеров с возможностью сравнивать полученные генетические профили сортообразцов с аналогичными, полученными в лабораториях разных стран [11]. А для оптимизации процесса исследователями из Ист-Моллингской научной станции (East Malling Research), Великобритания, был создан приоритетный набор из 12 маркеров с корректировкой аллельного размера: CH01d08, CH01d09, CH01f07a, CH03d12, CH04H02, CH04e03, CH05c06, EMPc11, EMPc117, GD147, CH02b10 и CH01c06A [13].

Таким образом, сегодня микросателлитные ДНК-маркеры являются наиболее распространенным инструментом, используемым в маркер-вспомогательной селекции, при работе с генетическими ресурсами растений – определении структуры коллекций и степени генетического сходства, а также идентификации и ДНК-паспортизации образцов. Но следует отметить, что данные исследования широко проводятся за рубежом, в то время как в Беларуси таких исследований крайне мало. И так как в последние годы в развитии банков ДНК появилась тенденция к их интеграции, то необходимость ведения собственной базы данных является актуальной для каждого научного центра [14].

Цель настоящей работы – провести идентификацию сортов с помощью рекомендованного EDPGR набора молекулярных маркеров для пополнения национальной паспортной базы и обмена данными по всему миру в согласованном порядке.

ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом исследования являлись 47 сортов груши различного генетического и географического происхождения из национальной коллекции генетических ресурсов РУП «Институт плодоводства» (табл. 1).

Таблица 1. Объекты исследования

Название сорта	Страна происхождения
<i>P. communis</i> L.	
Бере Александр Люка (Beurre Aleksandre Lukas), Оливье де Серр (Olivier de Serres)	Франция
Бере слущкая, Духмяная, Лагодная	Беларусь
Велеса, Красавица Черненко, Левен, Сильва	Россия
Видлуння, Виктория (Вікторія), Вродлива (Вродлива), Золотоворотская (Золотоворітська), Изумрудная (Ізумрудна), Мрия (Мрія), Чаривныца (Чарівниця)	Украина
Выставочная (Vistavocinaia), Сокровище (Sokrovišce)	Молдова
Доктор Люциус (Docteur Lucius)	Германия
Конференция (Conference)	Великобритания
Паттен (Patten)	США
Паулина	Латвия
<i>P. communis</i> × <i>P. × ussuriensis</i>	
Августовская роса, Десертная росошанская, Есенинская, Мраморная, Памяти Яковлева, Потаповская, Прима, Петровская, Сеянец Яковлева 111, Сеянец Яковлева 104, Северянка краснощекая, Чижовская	Россия
Киргизская зимняя (Майская)	Киргизия
Купала, Поздняя Белсад, Просто Мария, Спакуса, Ясачка	Беларусь
Нарядная из Млиева (Нарядна з Млієва)	Украина
<i>P. communis</i> × <i>P. × pyrifolia</i>	
Восточная золотистая, Деканка новая	Россия
Кудесница	Беларусь
Талгарская красавица	Казахстан
<i>P. × pyrifolia</i> (Burm.) Nakai	
Косуи (Kosui)	Япония
<i>P. × ussuriensis</i> Maxim.	
Чуспан (Chuspan)	Китай

Препараты ДНК выделяли из молодых листьев груши с помощью набора Genomic DNA Purification Kit фирмы Thermo Fisher Scientific согласно рекомендованному протоколу.

В исследовании использовали 12 приоритетных маркеров (из универсального набора, рекомендованного EDPGR), которые были сгруппированы в пять мультиплексных наборов, содержащих по 2 или 3 маркера. В каждом наборе SSR-маркеры были сгруппированы с учетом диапазона размеров амплифицированных фрагментов и имели разные флуоресцентные метки (By5, By5,5). 1-й набор: A(CH01c06), B(CH02b10); 2-й набор: D(CH04h02), E(CH03d12); 3-й набор: G(CH05c06), H(EMPc11); 4-й набор: J(EMPc117), K(CH01d09), L(CH04e03); 5-й набор: M(GD147), N(CH01f07a), O(CH01d08). Последовательности праймеров приведены в табл. 2.

Таблица 2. Последовательности маркеров, использованные для ДНК-идентификации сортов груши (2018, 2019, 2024 гг.)

№	Праймеры	Последовательность олигонуклеотидов (F + R)	Метка	Размер аллелей, п. н.	Температура, °C
A	CH01c06	5'-TTCCCCATCGATCTCTC-3' 5'-AAACTGAAGCCATGAGGGC-3'	By5,5	150–166	47
B	CH02c02b	5'-TGCATGCATGGAAACGAC-3' 5'-TGGAAAAAGTCACACTGCTCC-3'	By5	103–133	48
D	CH04h02	5'-GAATTCTCGTCCCTTCATCTC-3' 5'-GTTCTTAGCCTCCATTCTG-3'	By5	160–209	52
E	CH03d12	5'-GCCCAGAAGCAATAAGTAAACC-3' 5'-ATTGCTCCATGCATAAAGGG-3'	By5,5	109–125	53
G	CH05c06	5'-ATTGGAACCTCCGTATTGTGC-3' 5'-ATCAACAGTAGTGGTAGCCGGT-3'	By5	88–118	55
H	EMPc11	5'-GCGATTAAAGATCAATAAACCCATA-3' 5'-AAGCAGCTGGTTGGTGAAT-3'	By5,5	140–155	51
J	EMPc117	5'-GTTCTATCTACCAAGCCACGCT-3' 5'-CGTTTGTGTGTTTACGTGTTG-3'	By5	99–119	53

Окончание табл. 2

№	Праймеры	Последовательность олигонуклеотидов (F + R)	Метка	Размер аллелей, п. н.	Температура, °C
K	CH01d09	5'-GCCATCTGAACAGAATGTGC-3' 5'-CCCTTCATTACATTTCCAG-3'	By5,5	133–156	51
L	CH04e03	5'-TTGAAGATGTTTGGCTGTGC-3' 5'-TGCATGTCTGTCTCCTCCAT-3'	By5	179–205	45
M	GD147	5'-TCCCGCCATTTCTCTGC-3' 5'-AAACCGCTGCTGCTGAAC-3'	By5	118–124	55
N	CH01f07a	5'-CCCTACACAGTTTCTCAACCC-3' 5'-CGTTTTTGGAGCGTAGGAAC-3'	By5,5	177–195	55
O	CH01d08	5'-CTCCGCCGCTATAACACTTC-3' 5'-TACTCTGGAGGGTATGTCAAAG-3'	By5	278–283	55

В целях эффективного сопоставления полученных профилей по 10 из 12 примененных нами маркеров в качестве стандарта плоидности использовали контрольный сорт Конференция с установленной молекулярной формулой (Conference B_{122;126} E_{106;123} G_{87;97} H_{138;149} J_{115;117} K₁₅₅ L_{180;205} M₁₂₁ N_{180;191} O₂₈₂) [13].

Реакционная смесь объемом 25 µl содержала готовый премикс 2x ArtMix Color – 12,5 µl, 1 µl праймера (10 pmol/µl), ДНК (50 ng/µl) – 2,5 µl. Условия проведения амплификации: начальная денатурация при 95 °C в течение 2 мин, затем 45 циклов: 95 °C в течение 5 с, температура отжига в зависимости от используемого праймера – 10 с, синтез при 72 °C в течение 10 с. Реакция проводилась в термоциклере C 1000 Touch CFX96 (Applied Biosystems, USA). Для подтверждения наличия продуктов амплификации предварительно визуализировали в агарозном геле.

Полиморфизм праймеров, а также генетическое разнообразие оценивали, используя следующие параметры: аллели на локус (*Na*), эффективное число аллелей (*Ne*), ожидаемую гетерозиготность (*He*) и наблюдаемую гетерозиготность (*Ho*), рассчитываемую по формулам согласно Nei (1978) с помощью пакета программ Excel [15]:

$$He = 1 - \sum (pi)^2,$$

$$Ne = 1 / \sum (pi)^2,$$

где *pi* – частота встречаемости *i*-го аллеля.

Фрагментный анализ SSR-маркеров проводили с помощью системы генетического анализа GenoLab GeXP Genetic Analysis (Beckman Coulter).

Оценка генетической близости образцов и построение дендрограммы проводили на основании индекса генетического сходства Жаккарда, кластерный анализ выполнен методом UPGMA с использованием пакета программ MolMarker.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ полиморфизма и генотипирование изучаемых образцов были проведены с использованием вышеуказанных маркеров. Данная маркерная система продемонстрировала высокий уровень полиморфизма при предварительном генотипировании контрольного сорта Конференция, где генетический профиль (Конференция B_{124;128} E_{109;126} G_{89;95} H_{140;153} J_{115;119} K₁₅₇ L_{185;200} M₁₂₂ N_{182;200} O₂₈₁) соответствовал его профилю из Британской национальной коллекции плодовых культур (NFC).

В ходе исследования общее число идентифицированных аллелей у изученных сортов составило 249, из них 152 (61 %) – полиморфные, 97 – мономорфные (39 %) (табл. 3).

Количество выявленных аллелей (*Na*) на маркер колебалось от 12 для маркера CH01c06 до 30 для – CH04e03. Средняя частота встречаемости составила 20,75. Такой высокий уровень полиморфизма обусловлен тем, что многие аллели встречаются только один раз среди анализируемых генотипов. Так, например, у маркера CH02c02b из 17 детектируемых аллелей 7 размером 109, 113, 125, 128, 129, 130, 138 п. н. встречаются у одного из анализируемых образцов и, следова-

Таблица 3. Статистические параметры SSR-маркеров, полученные при анализе коллекции сортов груши РУП «Институт плодоводства» (2018, 2019, 2024 гг.)

Маркеры	Параметры			
	<i>Na</i>	<i>He</i>	<i>Ne</i>	<i>Ho</i>
CH01c06	12	0,78	4,57	0,68
CH02c02b	17	0,87	8,19	0,61
CH04h02	17	0,75	4,08	0,44
CH03d12	19	0,85	6,81	0,55
CH05c06	25	0,93	14,43	0,97
EMPCl1	22	0,92	14,05	0,78
EMPCl17	23	0,85	6,91	0,38
CH01d09	21	0,92	12,83	0,53
CH04e03	30	0,93	14,04	0,70
GD147	26	0,95	18,84	0,49
CH01f07a	23	0,91	11,33	0,68
CH01d08	14	0,90	10,79	0,48
Всего	249	10,56	126,8	7,29
Среднее значение	20,75	0,88	10,57	0,61

тельно, их можно отнести к редким, в то время как аллель длиной 131 п. н. представлен в геноме 20 сортов (табл. 3).

Значение коэффициента полиморфизма (*He*), варьировало в пределах от 0,75 для локуса CH04h02 до 0,95 для GD147. Среднее значение было равным 0,88. Такое высокое значение обусловлено детектированием большого количества редко встречаемых аллелей. Эффективное число аллелей (*Ne*) было максимальным (18,84) и минимальным (4,08 и 4,57) в тех же локусах – GD147 и CH04h02, CH01c06 соответственно. Наблюдаемый уровень гетерозиготности (*Ho*) у исследуемых образцов был относительно высоким и варьировал от 0,38 до 0,97. Так как данные величины у рассмотренных локусов были пропорциональны, это доказало хорошую информативность маркеров и высокий уровень полиморфизма микросателлитных последовательностей в геноме груши.

При проведении генотипирования оптимальное объединение SSR-маркеров в мультиплексных наборах позволило нам эффективно идентифицировать целевые фрагменты при выполнении фрагментного анализа, данные приведены в табл. 4.

Данные о составе аллелей, полученные с помощью 12 SSR-маркеров, были использованы для построения дендрограммы генетического сходства 47 сортов груши (см. рисунок).

По результатам анализа все сорта были распределены на 6 кластеров. Сорта, входящие в I и VI кластеры, показали наибольшую генетическую отдаленность от остальных изученных образцов. Это сорт китайской селекции Чуспан, происхождение которого связано с грушей уссурийской, и сорт казахской селекции Талгарская красавица, полученный от свободного опыления сорта Fondante de Bois [16] предположительно пыльцой сорта, производного груши *P. pyrifolia*.

Сорта, полученные в результате скрещивания европейских сортов с уссурийской грушей, распределились в два кластера – II и IV, совместно с сортами европейской груши. Такое распределение говорит о схожести их геномов. Следует отметить, что большая часть сортов, составляющих II кластер, – сорта российской селекции Десертная росошанская, Мраморная, Чижевская, Сеянец Яковлева 111, Потаповская, у которых в родословной присутствует *P. ussuriensis* и общая родительская форма Лесная красавица, что обусловило их близкое генетическое расстояние.

Сорта III и V кластеров показали генетическую отдаленность, так как являются производными от *P. pyrifolia* и потомками первого поколения *P. communis* × *P. pyrifolia* Косуи (Kikusui × Wase Kozo), Восточная золотистая (*P. pyrifolia* × Гнокко), Деканка новая (*P. pyrifolia* × Doyenne d'Hiver).

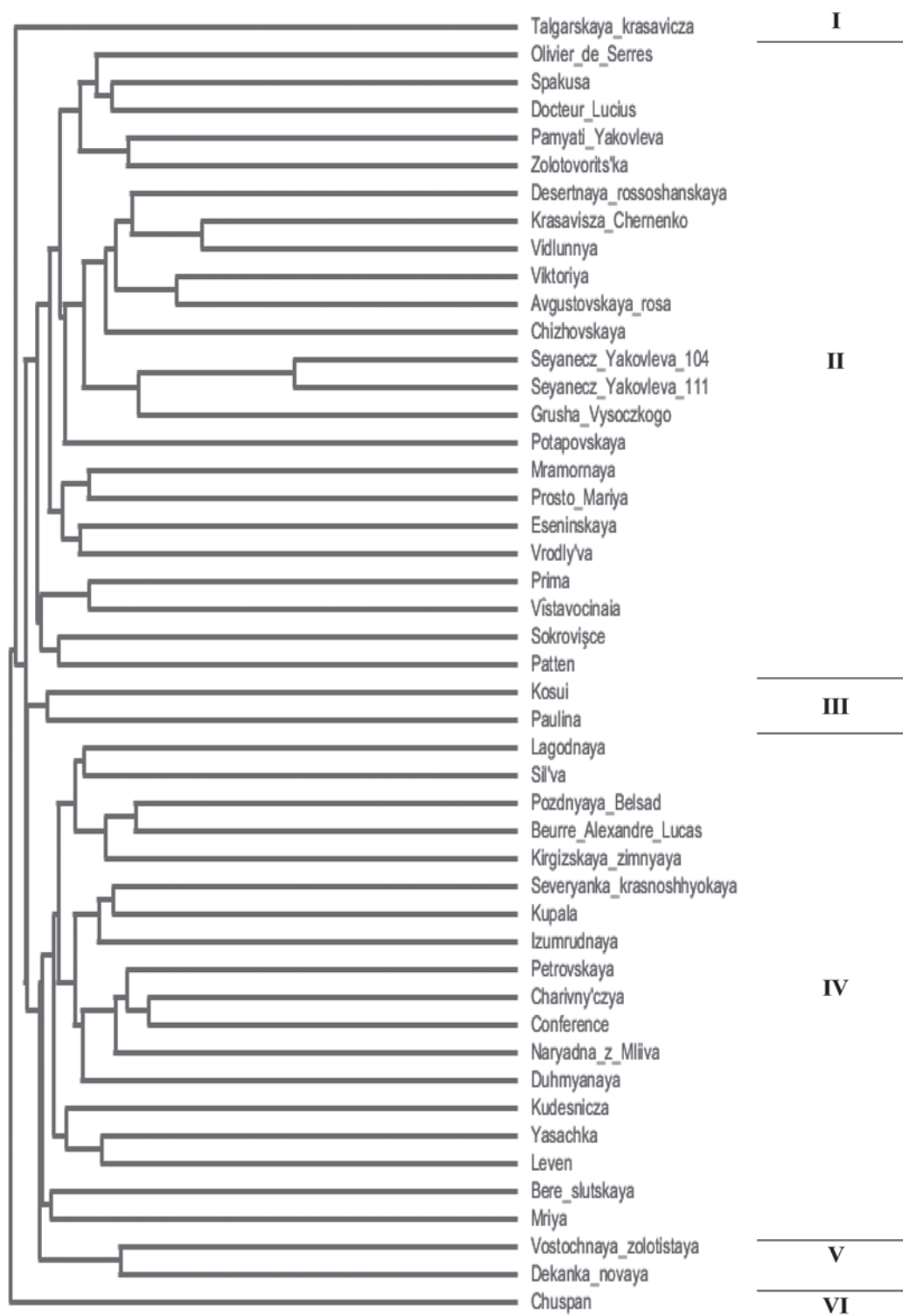
Таким образом, наибольшие генетические расстояния разделяют представителей разных видов, потомки вида *P. communis* более генетически однородны. Довольно четко выделяются подгруппы сортов, имеющих в своем происхождении общую родительскую форму – Лесная красавица.

Таблица 4. Микросателлитные ДНК-профили изучаемых сортов груши

Образец	Микросателлитные маркеры											
	СН01с06	СН02b10	СН04h02	СН03d12	СН05с06	ЕМРс11	ЕМРс17	СН01d09	СН04е03	GD147	СН01f07a	СН01d08
	A	B	D	E	G	H	J	K	L	M	N	O
Мультиплексные наборы												
4												
1	2	3	4	5								
147;165	108;133	160;209	86;130	88;118	140;155	99;119	133;156	179;205	118;124	177;195	278;283	
147;155	118	181	109;126	89;111	142;149	115;119	141;153	172;192	120	180	278	
149;155	123;127	181	109;126	92;98	150;154	104;119	152;158	187;200	123;131	184;219	285	
151;156	125;129	163;181	113	92;109	141;149	115;119	143;151	194;198	122;132	182;198	286	
147;149	118	181	86;109	93;111	149;151	117;119	134;153	177	120;126	180	284	
147	118;131	181	109;126	89;93	149;152	94;121	155	177;183	120;122	180	278;284	
155	110;131	181	113	110;116	149;154	94;109	131;142	212	122;134	190;210	283	
147	118;124	181	109;126	88;93	149;156	120;124	149;153	191	121	200;207	280;288	
150	124;132	181	113	96;114	154	120	132;152	172;190	118	182;199	285	
147;150	132	181;201	113;126	89;92	145;152	119	154	185	118;120	180	279;284	
155	110;123	181;185	98;126	87;97	148;153	103	142;157	203	122;134	182;190	280;283	
146;149	123;131	161;181	125	93;111	149;151	113;121	141;155	191	120;130	180	282;284	
147;149	116;123	180;182	109;126	89;95	141;155	109;117	134;155	177;182	119;121	169;180	278;288	
147;149	116;131	170;182	109	94;112	144;154	108;124	156	192	123	183	286	
147;163	132	181;191	109;126	88;94	147;152	115	130;148	183;192	111;121	181	278	
155;157	132	181	130	89;95;111	142;149	117	130;155	182	122;126	180	282;284	
147	117;131	181	108;121	96;112	153	101	—	183	123	181;207	280	
149;155	123;131	181	112;126	104;112	150	120;126	132;152	184;198	123	182	280;286	
147;149	124;128	181	109;126	89;95	140;153	115;119	157	185;200	122	182;200	281	
155;157	110;118	181	103;109	92;111	155;159	98;117	157	180;188	124;138	188	281;298	
147;149	132	181	109	93;109	151	117	134;157	191	120	180;203	284;288	
147;155	123;131	179;200	94;112	96;109	141;153	119;121	131;141	187;197	123;134	182;199	281;285	
147	123;131	162;181	108;112	96;112	142;154	122	150;157	172;192	123;127	182	287	
147;155	116;131	181	112;126	96;113	154	117;115	140;155	186;196	120;137	174;182	278;284	
149	131	180;200	113	92;98	154	—	157	193;197	122;126	183	281;287	
147;149	128;132	162;181	90;126	89;112	140;150	113	141;155	192	119;128	181	281;286	
147	113;131	181	110	95;113	139;147	117;123	133;152	193	122;132	183	286	
147	131	181	109	93;113	144;157	120	155	185	117;123	182;200	286	
147;155	123;131	179;182	120;126	95;110	141;150	115	130;155	183	120;126	180	279;282	
147;157	132	180	92;126	95;111	149;151	117;125	141;155	182;193	124	180	282	
146;148	117	181	107	88;93	151;155	113;122	182	192	120	180	284;288	
149;157	116;118	181	111;130	102;117	145;159	122;126	154	198;200	125;127	184;205	283;285	

Окончание табл. 4

Образец	Микросателлитные маркеры											
	СН01с06	СН02b10	СН04h02	СН03d12	СН05с06	ЕМРe11	ЕМРe17	СН01d09	СН04е03	GD147	СН01f07a	СН01d08
	A	B	D	E	G	H	J	K	L	M	N	O
Мультиплексные наборы												
4												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
147;165	108;133	160;209	86;130	88;118	140;155	147;153	99;119	133;156	179;205	118;124	177;195	278;283
147;149	117;131	173;181	109	93;111	147;153	147;153	105;119	151;155	188	121	182	281
149;155	116;127	181;187	126	98;114	154	154	—	152	198	126;133	184	284
147;157	120;132	178;181	86	91;95	150;154	150;154	120	159	170	120;124	256	284
149	124;132	201	111;113	96;114	138;148	138;148	98;122	155	172;192	112;121	180	279;289
147;155	116;131	181	109;126	89;112	139;151	139;151	113;121	132;149	189;193	119;121	180	285;289
147;163	131	173;181	109;111	96;114	136;154	136;154	103;115	153;157	194	123	182;232	244
147;171	131	201	113	89;99	145	145	119;122	134;148	167	120	180	278
147;171	132	201	113	89;99	145	145	118;122	134;147	167	120	180	278
147	138	181	126	92;98	153	153	118	132;140	179;184	123	182;207	282
148	131	181	113;127	109	140;151	140;151	117	147;155	172;195	112;119	180	283
147;149	124;132	163;178	111;126	89;95	147;150	147;150	100;121	131;155	189	120;128	180	278;288
146;154	109;130	173;180	125	89;106	149;155	149;155	126	133	212	121;123	182;186	279
147	131	182	109;113	93;98	143;153	143;153	118	153;157	184	122	182	281;286
147;157	118;120	185;201	86	93;111	145;147	145;147	121	155;167	172;191	120;136	180	284
151	110	165;171	86	113;125	149;160	149;160	118	136;140	193;197	131;137	217;222	285
147;155	116;132	180;187	109	93;111	141;144	141;144	115;121	133;157	184;193	122;126	182	281;287



Дендрограмма генетического сходства 47 сортов груши

В целом сорта западноевропейской, российской и белорусской селекции не показали существенных различий, поскольку они обладают определенной общностью происхождения. Все это подтверждает высокую информативность использованных в данном исследовании EDPGR-маркеров при оценке степени генетического родства образцов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Методом SSR-анализа с использованием набора молекулярных маркеров, рекомендованных EDPGR, можно успешно идентифицировать сорта груши как для пополнения национальной паспортной базы Республики Беларусь, так и обмена данными по всему миру.

Данная маркерная система продемонстрировала высокий уровень полиморфизма при генотипировании 47 сортов груши различного генетического и географического происхождения из национальной коллекции РУП «Институт плодоводства», выявив 249 аллелей. Самый высокий коэффициент полиморфизма, а следовательно, и уровень информативности, был установлен для маркера GD147 (0,95).

В результате микросателлитного анализа изучаемой коллекции получены молекулярно-генетические формулы 47 образцов груши, пополнившие национальную паспортную базу.

Посредством полученной дендрограммы генетического сходства установлено, что сорта западноевропейской, российской и белорусской селекции не имеют существенных различий, в то время как азиатские представители, заняв отдельные ветви дендрита, находятся на значительном генетическом удалении.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Якимович, О. А. Коллекция груши РУП «Институт плодоводства» – национальное достояние Республики Беларусь / О. А. Якимович // Биология растений и садоводство: теория, инновации : сб. науч. тр. / НБС-ННЦ ; редкол.: Ю. В. Плугатарь (гл. ред.) [и др.]. – Крым, 2017. – Т. 144, № 1. – С. 83–87.
2. Varshney, R. K. Genomics-assisted breeding for crop improvement / R. K. Varshney, A. Graner, M. E. Sorrells // Trends in Plant Science. – 2005. – Vol. 10, № 12. – P. 621–630.
3. 15 years of GDR: new data and functionality in the genome database for Rosaceae / S. Jung, T. Lee, C. H. Cheng [et al.] // Nucleic Acids Research. – 2019. – Vol. 47, № D1. – P. 1137–1145.
4. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis / W. Powell, M. Morgante, C. Andre [et al.] // Molecular Breeding. – 1996. – Vol. 2. – P. 225–238.
5. Mapping of disease-related genes in Japanese pear using a molecular linkage map with RAPD markers / H. Iketani, K. Abe, T. Yamamoto [et al.] // Breeding Science. – 2001. – Vol. 51. – P. 179–184.
6. Identification of Asian pear varieties by SSR analysis / T. Kimura, Y. Z. Shi, M. Shoda [et al.] // Breeding Science. – 2002. – Vol. 52. – P. 115–121.
7. Development and characterisation of 140 new microsatellites in apple (*Malus × domestica* Borkh.) / R. Liebhard, L. Gianfranceschi, B. Koller [et al.] // Molecular Breeding. – 2002. – Vol. 10, № 4. – P. 217–241.
8. Полиморфизм SSR-аллелей сортов груши, выращиваемых в Беларуси / О. Ю. Урбанович, З. А. Козловская, О. А. Якимович, Н. А. Картель // Генетика. – 2011. – Т. 47, № 3. – С. 349–358.
9. Анализ полиморфизма микросателлитных локусов сортов и видов груши (*Pyrus*) / Н. А. Яковин, И. А. Фесенко, А. В. Исачкин, Г. И. Карлов // Генетика. – 2011. – Т. 47, № 5. – С. 643–650.
10. Development of microsatellite markers in the Japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) / T. Yamamoto, T. Kimura, M. Shoda [et al.] // Molecular Ecology Notes. – 2002. – Vol. 2, № 1. – P. 14–16.
11. Genetic diversity in collection of European pear (*Pyrus communis*) cultivars determined with SSR markers chosen by ECPGR / J. Senic, L. Garkava-Gustavsson, F. Fernández-Fernández, H. Nybom // Scientia Horticulturae. – 2012. – № 145. – P. 39–45.
12. Genetic diversity and similarity of pear (*Pyrus* L.) cultivars native to East Asia revealed by SSR (simple sequence repeat) markers / L. Bao, K. Chen, D. Zhang [et al.] // Genetic Resources and Crop Evolution. – 2007. – Vol. 54. – P. 959–971.
13. Evans, K. M. Harmonising fingerprinting protocols to allow comparisons between germplasm collections – *Pyrus* / K. M. Evans, F. Fernández-Fernández, C. Govan // Acta Horticulturae. – 2009. – Vol. 814. – P. 103–106.
14. Генетические ресурсы растений в Беларуси: мобилизация, сохранение, изучение и использование / НАН Беларуси, НПЦ НАН Беларуси по земледелию ; редкол.: Ф. И. Привалов (гл. ред.) [и др.]. – Минск : Четыре четверти, 2019. – 452 с.
15. Nei, M. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases / M. Nei, W. H. Li // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 1979. – Vol. 76. – P. 5269–5273.
16. Марцинкевич, Т. Н. Оценка гибридного потомства сорта Талгарская красавица на устойчивость к парше груши и выявление фрагмента гена устойчивости / Т. Н. Марцинкевич, О. А. Якимович, З. А. Козловская // Плодоводство : сб. науч. тр. / НАН Беларуси, Ин-т плодоводства ; редкол.: В. А. Самусь (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2017. – Т. 29. – С. 41–47.

RESULTS OF MARKER-ASSISTED PEAR BREEDING IN BELARUS

T. N. MARCINKEVICH, T. A. GASHENKO, O. A. YAKIMOVICH, YU. G. KONDRATENOK, A. M. RYMKO

Abstract

DNA markers represent an alternative to classical breeding for the selection of cultivars and hybrids based on economically valuable traits. This article presents the results of applying a marker-assisted selection (MAS) method for the identification of pear genotypes in the national collection of the Republic of Belarus. Genetic profiles were obtained for 47 pear accessions using the EDPGR-recommended set of markers, which enables generation of comparable data across laboratories worldwide, thus contributing to a more efficient evaluation of Belarusian genetic resources, variety protection, and coordinated international data exchange. The markers were grouped into duplex and triplex multiplex sets to improve the efficiency of genotyping through simultaneous analysis at multiple loci using fragment analysis. Cluster analysis revealed intraspecific genetic relationships among the studied pear cultivars. A dendrogram illustrating genetic similarity was constructed.

Keywords: pear, collection, marker-assisted selection, EDPGR markers, molecular genetic profiles, Belarus.

Поступила в редакцию 06.03.2025