

ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СОРТОВ ВИШНИ ОБЫКНОВЕННОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ SSR-МАРКЕРОВ

И. Г. ПОЛУБЯТКО, Т. А. ГАШЕНКО, А. А. ТАРАНОВ

РУП «Институт плодоводства»,
ул. Ковалёва, 2, аг. Самохваловичи, Минский район, 223013, Беларусь,
e-mail: belhort@belsad.by

АННОТАЦИЯ

Микросателлитные ДНК-маркеры эффективно используются для изучения генетического разнообразия генофонда и для ДНК-паспортизации сортов плодовых культур. Для анализа полиморфизма 12 исследуемых генотипов вишни было использовано десять SSR-маркеров. Результаты исследований свидетельствуют о довольно высоком генетическом разнообразии этих сортов. Количество аллелей на локус, идентифицированных в данном исследовании, варьировало от 2 до 20, в общей сложности было выявлено 93 аллеля. Среднее количество аллелей на локус для 12 сортов составило 9,3. Из использованных SSR-маркеров маркер EMPA015 имел наибольшее число аллелей – 20, маркер EMPA006 был наименее полиморфным. Для остальных маркеров было обнаружено от 4 до 13 аллелей на локус. Выявлены сорта вишни с редкими и уникальными аллелями. На основе данных SSR-анализа составлены молекулярно-генетические профили 12 сортов вишни, включенных в государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений и разрешенных для возделывания в хозяйствах разных форм собственности в Республике Беларусь.

Ключевые слова: вишня, сорт, SSR-маркеры, молекулярно-генетический профиль, Беларусь.

ВВЕДЕНИЕ

Определение генотипов растений и определение сортовой принадлежности у плодовых культур играют ключевую роль в исследовании генетического разнообразия коллекций и все более активно используются в селекционной работе. Разработка нового сорта плодовых растений с желаемыми характеристиками может занять от двух до трех десятилетий. Использование генетических источников, обладающих определенными признаками, подтвержденными объективной оценкой, существенно повышает эффективность селекционного процесса. В связи с этим особую актуальность приобретают современные молекулярно-генетические методы идентификации генотипов плодовых культур [1, 2]. Среди них наиболее популярным для исследования генетического разнообразия растений и генотипирования отдельных экземпляров является метод SSR-маркирования, который основывается на анализе полиморфизма микросателлитных локусов генома.

Геном вишни обыкновенной (*Prunus cerasus* L.) демонстрирует значительное сходство с геномом черешни и другими представителями рода *Prunus*, что открывает возможности для использования молекулярных маркеров к локусам микросателлитных последовательностей, разработанных для других видов данного рода в анализе генетического разнообразия вишни обыкновенной.

Сначала микросателлитные маркеры для изучения генетического разнообразия и паспортизации плодовых культур рода *Prunus* (персик, слива, абрикос, черешня, вишня) были выделены у персика (*P. persica*), а затем эти маркеры начали использоваться для вишни и черешни [3, 4].

Первые результаты исследований по изучению генетического разнообразия черешни и вишни с использованием SSR-маркеров отражены в работах E. Dirlewanger, P. Cosson, M. Tavaud et al. [5], S. Downey, A. Iezzoni [6], C. Cantini, A. F. Iezzoni, W. F. Lamboy et al. [7], A. Wünsch, J. I. Hormaza [8, 9], S. Schueler, A. Tusch, M. Schuster, B. Ziegenhangen [10], S. P. Vaughan, K. Russell [11], Y. A. Kacar, A. Iezzoni, S. Cetiner [12], S. Ohta, T. Katsuki, T. Tanaka et al. [13], A. M. Höltken, H. R. Gregorius [14], D. Struss, R. Ahmad, S. M. Southwick, M. Boritzki [15], A. Frei, D. Szalatnay, T. Zollinger, J. E. Frey [16].

E. Dirlewanger, P. Cosson, M. Tavaud и другие соавт. [5] проводили анализ генетического разнообразия 21 сорта черешни с использованием 41 SSR-маркера серии BPPCT, разработанных для

персика. Число аллелей на локус колебалось от 1 до 6, в среднем составляя 2,8. Изучаемые сорта черешни отличались лишь по маркерам BPPCT034, BPPCT038 и BPPCT040.

C. Cantini, A. F. Iezzoni, W. F. Lamboy и другие соавт. [7] проанализировали полиморфизм 59 образцов тетраплоидной вишни из американской коллекции, используя 10 пар SSR-праймеров. Сорта вишни демонстрировали высокий уровень полиморфизма, варьирующий от 4 до 16 аллелей на пару праймеров. Уровень гетерозиготности колебался в диапазоне от 0,679 до 1,000, тогда как показатель полиморфизма находился в пределах от 0,655 до 0,906, с усредненным значением 0,810 для всех исследованных пар праймеров. Анализ показал, что наибольшую эффективность в определении генетического разнообразия демонстрирует пара праймеров PMS3, в то время как пара PS08E08 обладает наименьшей информативностью.

В своих работах A. Wünsch и J. I. Normaza [8, 9] на черешне протестировали 34 пары микросателлитных праймеров, разработанных для персика, для идентификации генетических особенностей черешни. Из этих маркеров 13 продемонстрировали полиморфизм и 9 из них были использованы для идентификации 72 из 76 исследованных генотипов черешни, охватывающих как старые сорта, так и новые генотипы, полученные в ходе селекционных программ.

В исследовании, проведенном Y. A. Kacar, A. Iezzoni, S. Cetiner [12], для идентификации сортов и типов черешни было применено 13 SSR-маркеров, выделенных из черешни (*P. avium* L.), вишни (*P. cerasus* L.) и персика (*P. persica* (L.) Batsch). Из этих маркеров 7 (pceGA77, pceGA34, pceGA25, PMS2, PMS3, PMS30, PMS67) продемонстрировали наибольшую информативность, обеспечивая выявление от 3 до 6 аллелей на каждый локус.

В Беларуси подобные исследования были начаты О. Ю. Урбанович, П. В. Кузмицкой, З. А. Козловской и А. А. Тарановым на базе Института генетики и цитологии НАН Беларуси [17]. Их научно-исследовательская работа была сосредоточена на анализе генетического разнообразия SSR-аллелей коллекции сортов вишни обыкновенной РУП «Институт плодоводства», а также на выборе набора молекулярных маркеров для их идентификации. Сформированная выборка включала 17 образцов различного географического происхождения – из Беларуси, России, Украины, Польши, Венгрии, США. Исследование данной коллекции сортов вишни, проведенное авторами с помощью 24 SSR-маркеров, показало, что они характеризуются высоким генетическим разнообразием, а также был выбран набор из 8 SSR-маркеров, позволяющий проводить идентификацию сортов.

Цель данного исследования – ДНК-маркирование для оценки полиморфизма SSR-аллелей и составление молекулярно-генетических профилей сортов вишни, включенных в государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений, для охраны авторских прав и сохранения уникального коллекционного материала.

ОБЪЕКТЫ, УСЛОВИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в лаборатории ПЦР-диагностики отдела селекции плодовых культур РУП «Институт плодоводства».

В качестве объектов для исследований служили 12 сортов вишни, включенных в государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений и разрешенных для возделывания в хозяйствах разных форм собственности в Республике Беларусь (табл. 1).

Создание молекулярно-генетических профилей для сортов вишни осуществлялось с учетом предварительной оптимизации ключевых параметров. Из молодых листьев вишни экстракция ДНК осуществлялась с использованием набора Genomic DNA Purification Kit, согласно рекомендованному протоколу. Амплификацию осуществляли на термоциклере C1000 Touch Thermal Cycler BioRad. Изучение полиморфизма проводили с использованием ПЦР с флуоресцентно-мечеными праймерами: EMPA018, EMPA007, EMPA005, EMPA015, EMPA006, EMPA001, EMPA026, BPPCT016, BPPCT040, BPPCT004 [5, 18].

Для одновременного анализа нескольких генетических локусов были сформированы группы SSR-маркеров, называемые мультиплексными наборами. В состав первого мультиплекса входили маркеры EMPA018 и EMPA007, во второй – маркеры EMPA005 и BPPCT016, в третий –

Таблица 1. Объекты исследования

Сорт	Происхождение	Страна происхождения
Вянок	Новодворская св. оп.	Беларусь
Гриот белорусский	Гриот остгеймский × Новодворская	Беларусь
Живица	Гриот остгеймский × Денисена желтая	Беларусь
Ласуха	Молодежная × Норт стар	Беларусь
Ливенская	Любская × Жуковская	Россия
Несвижская	Староместный сорт	Беларусь
Новодворская	Сеянец № 1, св. оп.	Беларусь
Памяти Вавилова	Сеянец неизвестного сорта	Россия
Ровесница	Сорт № 11 × Ширпотреб черная	Россия
Сеянец № 1	Сеянец местной вишни	Беларусь
Тургеневка	Жуковская, св. оп.	Россия
Уйфехертой фюртош	Клон сорта Панди	Венгрия

Таблица 2. Микросателлитные маркеры для изучения генетического разнообразия и создания генетических профилей сортов вишни

№	Название	Последовательность олигонуклеотида	Размер аллелей, п. н.
A	EMPA018	F: 5'-TCCAAGAACAAGCCAAAATC-3'	88–123
		R: 5'-AATTTCAATGCATTCTGGATAG-3'	
C	EMPA007	F: 5'-CAACCTCAAGGGCATATTGG-3'	174–188
		R: 5'-ACCAATGCAAGCATTCTCC-3'	
D	EMPA005	F: 5'-TGGGTTTGAGCAATATGCAA-3'	244–282
		R: 5'-CACCAATACACATGCACACG-3'	
E	BPPCT016	F: 5'-GATTGAGAGATTGGGCTGC-3'	94–96
		R: 5'-GAGGATTCTCATGATTTGTGC-3'	
F	EMPA015	F: 5'-TTTTGGTCAATCTGCTGCTG-3'	192–262
		R: 5'-CTCTCATCTTCCCCCTCCTC-3'	
G	BPPCT040	F: 5'-ATGAGGACGTGTCTGAATGG-3'	127–159
		R: 5'-AGCCAAACCCCTCTTATACG-3'	
H	EMPA006	F: 5'-CCGGTGATTTATAAACATTCCA-3'	101–106
		R: 5'-TCTTTGTGTTGAAATGCCCA-3'	
J	BPPCT004	F: 5'-CTGAGTGATCCATTTGCAGG-3'	181–200
		R: 5'-AGGGCATCTAGACCTCATTGTT-3'	
K	EMPA001	F: 5'-GCTCTGCTGCTTCAACCATT-3'	133–178
		R: 5'-TTTCCCAACACACTTACCCC-3'	
L	EMPA026	F: 5'-ATTGAAAAAGCCAAAGAGCG-3'	184–238
		R: 5'-TTCACGGTTTGAAGCAAGTG-3'	

EMPA015 и BPPCT040, в четвертый – EMPA006 и BPPCT004, в пятый – EMPA001 и EMPA026. Маркеры, используемые для оценки генетического разнообразия и составления профиля сортов вишни, приведены в табл. 2.

Реакционная смесь для проведения ПЦР с конечным объемом 10 мкл имела следующий состав: 5,0 мкл Quick-Load TAQ 2X Master Mix, 10 мкМ каждого праймера, ДНК-матрица (20 мкг/мкл) – 0,5 мкл, смесь доводили до объема 10,0 мкл ddH₂O.

Для ПЦР с праймерами серии EMPA были выбраны следующие условия амплификации: 1 цикл: 95 °С – 5 мин; 10 циклов: 95 °С – 40 с, 60 °С – 60 с (–1 °С на цикл), 72 °С – 30 с; 25 циклов: 95 °С – 40 с, 50 °С – 60 с, 72 °С – 30 с; 1 цикл: 72 °С – 5 мин.

Амплификацию с праймерами серии BPPCT проводили в условиях: 1 цикл: 95 °С – 5 мин; 35 циклов: 95 °С – 40 с, 57 °С – 60 с, 72 °С – 30 с; 1 цикл: 72 °С – 5 мин.

Электрофоретический анализ продуктов ПЦР проведен в 1,5%-ном агарозном геле в 0,5× TBE-буфере. Гель был окрашен с применением этидия бромид и затем визуализирован под ультрафиолетовым излучением с помощью системы документирования геля Bio-Rad. Далее продукты амплификации были разделены методом капиллярного электрофореза на генетиче-

ском анализаторе GenomeLab GeXP. В качестве стандарта при отработке экспериментальных параметров ПЦР использовался GenomeLab DNA Size Standard Kit - 600 (Beckman Coulter).

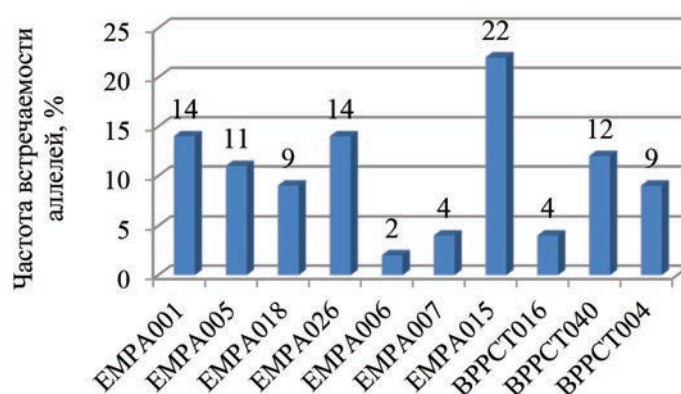
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках исследования для каждого примененного генетического маркера были определены размеры аллелей и число различных полиморфных фрагментов по каждому из 12 сортов вишни. Наблюдаемая вариативность аллелей колебалась от 2 до 20 в зависимости от конкретного локуса. Среди всех локусов наименьшей генетической изменчивостью отличался локус EMPA006, где было обнаружено всего 2 варианта аллелей. Маркеры EMPA007 и BPPCT016 показали наличие 4 различных аллелей. Для локусов EMPA018, BPPCT004 и EMPA005 выявили 8, 8 и 10 аллелей соответственно. Особо выделяются маркеры BPPCT040, EMPA026 и EMPA001, позволившие выявить 11 и 13 полиморфных аллелей в геномах исследуемых образцов. Максимальное разнообразие – 20 аллелей – было выявлено в локусе EMPA015. В итоге, по 10 изученным локусам в 12 сортах вишни было идентифицировано 93 различных аллеля (табл. 3).

Таблица 3. Полиморфизм SSR-локусов у 12 сортов вишни

Локус	Размер аллелей, п. н.	Число аллелей	Число уникальных аллелей	Число редких аллелей
EMPA018	88–123	8	4	0
EMPA007	174–188	4	2	0
EMPA005	244–282	10	5	3
BPPCT016	94–96	4	2	0
EMPA015	192–262	20	14	1
BPPCT040	127–159	11	5	2
EMPA006	101–106	2	1	0
BPPCT004	181–200	8	3	1
EMPA001	133–178	13	4	6
EMPA026	184–238	13	8	2
Итого		93	48	15
Среднее на локус		9,3	4,8	1,5

В среднем на один локус у анализируемых сортов приходится около 9,3 аллеля. Частота распределения аллельных вариаций в 10 изученных микросателлитных локусах колебалась от 2 до максимального значения в 22 %. Бóльшая часть (преимущественно) аллелей обнаруживалась с частотой ниже 14 % (см. рисунок).



Частота встречаемости аллелей 10 SSR-локусов в 12 сортах вишни

При оценке полиморфизма SSR-локусов у изученных сортов отдельно учитывали частоту уникальных аллелей, присутствующих только в одном сорте выборки, и редких аллелей, которые встречались в двух сортах. Из 93 аллелей, идентифицированных в 10 SSR-локусах, в общей

сложности 15 были редкими. В зависимости от локуса количество редких аллелей варьировало от 0 (ЕМРА018, ЕМРА006, ЕМРА007 и ВРРСТ016) до 6 (ЕМРА001). В выборке изученных сортов вишни было обнаружено 10 сортов с уникальными аллелями, редкие аллели были обнаружены у 11 сортов (табл. 4).

Таблица 4. Редкие и уникальные аллели SSR-локусов 12 сортов вишни

Аллель	Сорт	Аллель	Сорт
ЕМРА018	84 Сеянец № 1	ВРРСТ040	132 Тургеневка
	103 Ласуха		134 Сеянец № 1
	115 Несвижская		136 Уйфехертой фюртош, Ровесница
	119 Гриот белорусский		137 Памяти Вавилова
ЕМРА005	244 Жывица	ЕМРА006	138 Ласуха
	246 Новодворская, Ливенская		139 Гриот белорусский, Вянок
	247 Памяти Вавилова		148 Гриот белорусский
	249 Несвижская		101 Несвижская
	259 Несвижская	ЕМРА001	135 Памяти Вавилова
	260 Гриот белорусский, Памяти Вавилова		141 Уйфехертой фюртош, Несвижская
	280 Уйфехертой фюртош, Несвижская		142 Ровесница
	283 Гриот белорусский		144 Новодворская, Ливенская
ЕМРА015	197 Гриот белорусский, Ливенская		145 Памяти Вавилова, Вянок
	217 Гриот белорусский		147 Сеянец № 1
	222 Жывица		150 Несвижская, Ровесница
	223 Гриот белорусский		151 Вянок
	224 Несвижская		158 Гриот белорусский, Ливенская
	225 Тургеневка		164 Уйфехертой фюртош, Жывица
	227 Памяти Вавилова	ЕМРА026	207 Тургеневка
	230 Ровесница		213 Памяти Вавилова, Сеянец № 1
	231 Сеянец № 1		215 Гриот белорусский
	232 Жывица		222 Уйфехертой фюртош, Ровесница
	243 Уйфехертой фюртош		224 Ласуха
	254 Памяти Вавилова		226 Несвижская
	255 Сеянец № 1		230 Жывица
	257 Уйфехертой фюртош		234 Несвижская
	261 Вянок		236 Ласуха
ВРРСТ004	181 Тургеневка		239 Сеянец № 1
	185 Гриот белорусский	ВРРСТ016	87 Тургеневка
	194 Тургеневка		91 Памяти Вавилова
	198 Ласуха, Ровесница	ЕМРА007	177 Тургеневка
			179 Памяти Вавилова

Примечание. Полужирным шрифтом выделены уникальные аллели.

Максимальное количество уникальных аллелей отмечено у сортов Гриот белорусский, Память Вавилова, Тургеневка и Несвижская – по 7 аллелей. Уникальные аллели отмечены у сорта Сеянец № 1 – 6 аллелей, Жывица и Ласуха – по 4 аллеля, Ровесница, Вянок и Уйфехертой фюртош – по 2 аллеля.

Наибольшее количество редких аллелей отмечено у сорта Уйфехертой фюртош с 5 аллелями, по 4 редких аллеля имели сорта Ливенская, Гриот белорусский и Ровесница, по 3 аллеля – Память Вавилова и Несвижская. Сорта Несвижская, Жывица, Гриот белорусский, Память Вавилова, Уйфехертой фюртош, Сеянец № 1, Вянок, Ласуха, Ровесница имели одновременно как редкие, так и уникальные аллели.

Использование SSR-маркеров для ДНК-идентификации позволило составить генетические профили 12 сортов вишни. Анализ данных, приведенных в табл. 5, показал, что у каждого сорта вишни наблюдается уникальная комбинация аллелей в исследованных локусах. Некоторые полиморфные маркеры обнаруживают более 2 аллелей в геноме вишни обыкновенной, что сви-

детельствует о наличии у них нескольких сайтов связывания в геноме и, соответственно, о полилокусном характере. В отличие от вишни, у черешни и персика эти же маркеры характеризуются как монолокусные. Такая особенность обусловлена тетраплоидным происхождением вишни. Наши выводы согласуются с данными ранее проведенных исследований [17].

Таблица 5. Молекулярно-генетические профили сортов вишни, включенных в государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений

Образец	Длина аллелей в SSR-локусах, п. н.
Вянок	A ₈₃ C ₁₇₈ D ₂₄₅ E ₈₈ F _{196:226:261} G _{123:131:139} H ₁₀₃ J _{182:200} K _{145:151:154} L _{208:212:227}
Гриот белорусский	A _{111:119} C ₁₇₈ D _{260:283} E ₈₈ F _{197:201:217:223} G _{131:139:148} H ₁₀₃ J _{185:201} K _{146:155:158} L _{208:215}
Жывица	A _{99:111} C ₁₇₈ D ₂₄₄ E ₈₉ F _{200:222:232} G _{136:146} H ₁₀₃ J _{182:200} K _{146:154:164} L _{208:212:230}
Ласуха	A _{83:103:111} C ₁₈₀ D _{245:258} E ₈₉ F _{196:200:226} G _{123:133:138:146} H ₁₀₃ J _{182:198} K _{146:154} L _{208:212:224:236}
Ливенская	A _{99:107} C ₁₇₈ D ₂₄₆ E ₈₈ F _{197:201:226:253} G _{123:133} H ₁₀₃ J _{183:201} K _{144:154:158} L _{208:227}
Несвижская	A _{111:115} C ₁₇₈ D _{249:259:280} E ₈₈ F _{196:200:224:253} G _{133:146} H ₁₀₁ J _{182:200} K _{141:150:154} L _{208:226:234}
Новодворская	A ₉₉ C ₁₇₈ D ₂₄₆ E ₈₉ F _{200:226:253} G _{123:131} H ₁₀₃ J _{182:201} K _{144:154} L _{208:212}
Памяти Вавилова	A _{99:111} C ₁₇₉ D _{247:260} E ₉₁ F _{201:227:254} G _{123:133:137} H ₁₀₃ J _{183:201} K _{135:145:155} L _{208:213:227}
Ровесница	A _{83:107} C ₁₈₀ D ₂₅₈ E ₈₉ F _{196:226:230} G _{133:146} H ₁₀₃ J _{182:198} K _{142:146:150:154} L _{208:212:222}
Сеянец № 1	A ₈₄ C ₁₈₀ D _{245:258} E ₈₉ F _{201:231:255} G _{123:134} H ₁₀₃ J ₁₈₃ K _{147:155} L _{208:213:239}
Тургеневка	A _{83:107} C ₁₇₇ D ₂₄₅ E ₈₇ F _{196:200:225} G _{132:146} H ₁₀₃ J _{181:194:200} K _{146:154} L _{207:212}
Уйфехертой фюртош	A ₉₉ C ₁₇₈ D _{258:280} E ₈₈ F _{196:200:243:257} G ₁₃₆ H ₁₀₃ J ₁₈₂ K _{141:154:164} L _{208:222}

Изучение распределения генетических аллелей в образцах вишни выявило, что каждый сорт обладает уникальным набором этих аллелей. Каждый профиль представляет собой своеобразную генетическую формулу и состоит из буквенных обозначений, где каждая буква соответствует определенному генетическому локусу (A – ЕМРА018, C – ЕМРА007, D – ЕМРА005, E – ВРРСТ016, F – ЕМРА015, G – ВРРСТ040, H – ЕМРА006, J – ВРРСТ004, K – ЕМРА001, L – ЕМРА026), а индекс указывает на размер соответствующего аллеля. Такая молекулярно-генетическая классификация позволяет создать базу данных генотипов исследованных сортов вишни и с высокой точностью отличать их друг от друга на молекулярном уровне благодаря использованию специально подобранной системы маркеров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований полиморфизма 10 микросателлитных локусов у 12 районированных сортов вишни обыкновенной было выявлено 93 аллеля. В зависимости от конкретного локуса количество аллелей колебалось от 2 до 20, в среднем составив 9,3. Наибольшей полиморфностью выделялся локус ЕМРА015, тогда как локус ЕМРА006 оказался наименее полиморфным. Число обнаруживаемых аллелей в локусе зависит от состава выборки исследуемых образцов и значительно возрастает при увеличении разнообразия генотипов. В ходе работы были выделены сорта вишни, обладающие редкими (Новодворская, Ливенская, Гриот белорусский, Память Вавилова, Уйфехертой фюртош, Несвижская, Ласуха, Ровесница, Вянок, Жывица, Сеянец № 1) и уникальными аллелями (Сеянец № 1, Ласуха, Несвижская, Гриот белорусский, Жывица, Память Вавилова, Тургеневка, Ровесница, Уйфехертой фюртош, Вянок).

На основе данных SSR-анализа составлены молекулярно-генетические профили 12 сортов вишни, включенных в государственный реестр сортов сельскохозяйственных растений и разрешенных для возделывания в хозяйствах разных форм собственности в Республики Беларусь.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- Куликов, И. М. Значение генетических коллекций плодовых культур для инновационного развития отрасли / И. М. Куликов, Л. А. Марченко // Вестник Российской академии наук. – 2015. – № 85 (1). – С. 18.

2. Развитие научной школы по садоводству профессора В. В. Кичины, выдающегося генетика и селекционера / И. М. Куликов, Н. Г. Морозова, В. С. Симонов, О. А. Сорокопудова // Плодоводство и ягодоводство России. – 2017. – № 49. – С. 186–195.
3. AC/GT and AG/CT microsatellites repeats in peach (*Prunus persica* (L.) Batsch): isolation, characterization and cross-species amplifications in *Prunus* / G. Cipriani, G. Lot, W.-G. Huang [et al.] // Theoretical and Applied Genetics. – 1999. – Vol. 99. – P. 65–72.
4. Development and variation analysis of microsatellite markers in peach / M. J. Aranzana, J. Garcia-Mas, J. Carbo, P. Arùs // Plant Breeding. – 2002. – Vol. 121. – P. 87–92.
5. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.) / E. Dirlwanger, P. Cosson, M. Tavaud [et al.] // Theoretical and Applied Genetics. – 2002. – Vol. 105. – P. 127–138.
6. Downey, S. Polymorphic DNA markers in black cherry (*Prunus serotina*) are identified using sequences from sweet cherry, peach and sour cherry / S. Downey, A. Iezzoni // Journal of the American Society of Horticultural Science. – 2000. – Vol. 125. – P. 76–80.
7. DNA fingerprinting of tetraploid cherry germplasm using simple sequence repeats / C. Cantini, A. F. Iezzoni, W. F. Lamboy [et al.] // Journal of American Society of Horticultural Sciences. – 2001. – Vol. 126 (2). – P. 205–209.
8. Wünsch, A. Molecular characterisation of sweet cherry (*Prunus avium* L.) genotypes using peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] SSR sequences / A. Wünsch, J. I. Hormaza // Heredity. – 2002. – Vol. 89. – P. 56–63.
9. Wünsch, A. Molecular evaluation of genetic diversity and S allele composition of local Spanish sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars / A. Wünsch, J. I. Hormaza // Genetic Resources and Crop Evolution. – 2004. – Vol. 51. – P. 635–641.
10. Characterization of microsatellites in wild and sweet cherry (*Prunus avium* L.) – markers for individual identification and reproductive processes / S. Schueler, A. Tusch, M. Schuster, B. Ziegenhangen // Genome. – 2003. – Vol. 46 (1). – P. 95–102.
11. Vaughan, S. P. Characterization of novel microsatellites and development of multiplex PCR for large-scale population studies in wild cherry, *Prunus avium* / S. P. Vaughan, K. Russell // Molecular Ecology Notes. – 2004. – Vol. 4. – P. 429–431.
12. Kacar, Y. A. Sweet cherry cultivar identification by using SSR markers / Y. A. Kacar, A. Iezzoni, S. Cetiner // Journal of Biological Sciences. – 2005. – Vol. 5 (5). – P. 616–619.
13. Genetic variation in flowering cherries (*Prunus subgenus Cerasus*) characterized by SSR markers / S. Ohta, T. Katsuki, T. Tanaka [et al.] // Breeding Science. – 2005. – Vol. 55. – P. 415–424.
14. Höltnen, A. M. Detecting local establishment strategies of wild cherry (*Prunus avium* L.) / A. M. Höltnen, H. R. Gregorius // BMC Ecology. – 2006. – Vol. 6 (13).
15. Analysis of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using SSR and AFLP markers / D. Struss, R. Ahmad, S. M. Southwick, M. Boritzki // Journal of the American Society for Horticultural Science. – 2003. – Vol. 128. – P. 904–909.
16. Molecular characterization of the national collection of Swiss cherry cultivars / A. Frei, D. Szalatnay, T. Zollinger, J. E. Frey // The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. – 2010. – Vol. 85 (4). – P. 277–282.
17. Разнообразие SSR-аллелей сортов вишни обыкновенной (*Prunus cerasus*) / О. Ю. Урбанович, П. В. Кузмицкая, З. А. Козловская, А. А. Таранов // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. – 2014. – № 2. – С. 64–69.
18. Clarke, J. B. Development and characterization of polymorphic microsatellites from *Prunus avium* 'Napoleon' / J. B. Clarke, K. R. Tobbutt // Molecular Ecology Notes. – 2003. – Vol. 3. – № 4 – P. 578–580.

GENETIC DIVERSITY STUDY OF COMMON CHERRY CULTIVARS USING SSR MARKERS

I. G. POLUBYATKO, T. A. GASHENKO, A. A. TARANOV

Abstract

Microsatellite DNA markers (SSRs) are effectively used for studying the genetic diversity of germplasm and for DNA fingerprinting of fruit crop cultivars. In this study, ten SSR markers were applied to analyze polymorphism across 12 common cherry genotypes. The results indicate a relatively high level of genetic diversity among the studied cultivars. The number of alleles per locus ranged from 2 to 20, with a total of 93 alleles identified. The average number of alleles per locus across the 12 cultivars was 9.3. Among the SSR markers used, EMPA015 showed the highest allelic diversity with 20 alleles, while EMPA006 was the least polymorphic. The remaining markers revealed between 4 and 13 alleles per locus. Some cherry cultivars were found to possess rare and unique alleles. Based on the SSR data, molecular genetic profiles were constructed for the 12 cherry cultivars included in the State Register of Plant Varieties approved for cultivation in various types of farms in the Republic of Belarus.

Keywords: cherry, cultivar, SSR markers, molecular genetic profile, Belarus.

Поступила в редакцию 07.03.2025