

Анализ variability микросателлитных локусов сортов яблони селекции ВИР

DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-151-158

УДК 575.174.015.3:634.11

Поступление/Received: 25.02.2021

Принято/Accepted: 02.09.2021



А. В. ШЛЯВАС^{1*}, А. А. ТРИФОНОВА²,
И. С. ЧЕПИНОГА³, А. С. СИДНИН⁴, К. В. БОРИС²

¹ Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов
растений имени Н.И. Вавилова,
190000 Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44
* ✉ ann2668@yandex.ru

² Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова
Российской академии наук,
119991 Россия, г. Москва, ул. Губкина, 3
✉ aichka89@mail.ru; docboris@mail.ru

³ Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов
растений имени Н.И. Вавилова,
Крымская опытно-селекционная станция ВИР
353384 Россия, Краснодарский край, г. Крымск,
ул. Вавилова, 12;
✉ kross67@mail.ru

⁴ Федеральный исследовательский центр
Всероссийский институт генетических ресурсов
растений имени Н.И. Вавилова, Волгоградская опытная
станция ВИР,
404160 Россия, Волгоградская обл., г. Краснослободск,
квартал Опытная станция ВИР, 30
✉ gnuvosvniir@yandex.ru

Microsatellite loci variability in apple cultivars developed at VIR

A. V. SHLYAVAS^{1*}, A. A. TRIFONOVA²,
I. S. CHEPINOGA³, A. S. SIDNIN⁴, K. V. BORIS²

¹ N.I. Vavilov All-Russian Institute
of Plant Genetic Resources,
42, 44 Bolshaya Morskaya Street,
St. Petersburg 190000, Russia
* ✉ ann2668@yandex.ru

² Vavilov Institute of General Genetics,
Russian Academy of Sciences,
3 Gubkina St., Moscow 119333, Russia
✉ aichka89@mail.ru; docboris@mail.ru

³ N.I. Vavilov All-Russian Institute
of Plant Genetic Resources,
Krymsk Experiment Breeding Station of VIR,
12 Vavilova St., Krymsk,
Krasnodar Territory 353384, Russia
✉ kross67@mail.ru

⁴ N.I. Vavilov All-Russian Institute
of Plant Genetic Resources,
Volgograd Experiment Station of VIR,
30 VIR Exp. Station Block,
Krasnoslobodsk 404160, Russia
✉ gnuvosvniir@yandex.ru

Актуальность. Микросателлитные (SSR) маркеры в настоящее время широко применяются как для исследования генетического разнообразия коллекций плодовых, в том числе яблони (*Malus × domestica* Borkh.), так и для генотипирования отдельных образцов. В крупнейшей в России коллекции яблони ВИР сохраняются сорта, созданные на пяти опытных станциях ВИР в разное время. Данные сорта ранее не изучались с использованием микросателлитных маркеров.

Материалы и методы. Изучено 35 сортов яблони селекции ВИР и четыре родительские формы с использованием набора из 10 SSR-маркеров (CH02c02b, CH03d01, CH01f03b, CH02d08, CH02c02a, CH05e03, CH02c09, CHVf1, CH01h01, COL). Фрагментный анализ проведен на ABI Prism 3130xl.

Результаты. У 35 сортов яблони селекции ВИР выявлено 97 аллелей по десяти изученным локусам. Количество аллелей на локус варьировало от 5 (CH02c02b) до 17 (CH02c02a). Частота уникальных аллелей составила 26,8%, редких аллелей – 12,4%. Уровень информативности маркеров варьировал от 0,49 (CH02c02b) до 0,91 (CH02c02a) при среднем значении 0,76. Показатели ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности для изученной выборки в среднем составили 0,79 и 0,56 соответственно. Кластерный анализ, проведенный по результатам исследования, не выявил четкого разделения сортов по месту происхождения, однако выявил дифференциацию согласно родовым.

Background. Microsatellite (SSR) markers are now widely used both for studying genetic diversity in fruit crop collections, including apple (*Malus × domestica* Borkh.), and for genotyping individual accessions. The apple collection held by VIR, being the largest in Russia, contains cultivars bred at five experiment stations of VIR. These cultivars not only meet the requirements of horticulture in the region of their origin, but also are interesting as sources of valuable traits for breeding programs. However, these cultivars have not previously been studied using microsatellite markers.

Materials and methods. A set of 10 SSR markers (CH02c02b, CH03d01, CH01f03b, CH02d08, CH02c02a, CH05e03, CH02c09, CHVf1, CH01h01, COL) was used for genotyping 35 apple cultivars developed at VIR and four parental forms. Fluorescently labeled PCR products were separated by capillary electrophoresis on ABI Prism 3130xl.

Results. In 35 apple cultivars from VIR, 97 alleles were identified at ten studied loci. The number of alleles per locus varied from 5 (CH02c02b) to 17 (CH02c02a). The frequency of unique alleles was 26,8%, with 12,4% for rare alleles. Polymorphism information content (PIC) values varied from 0,49 (CH02c02b) to 0,91 (CH02c02a) and averaged 0,76. Expected and observed heterozygosity levels averaged 0,79 and 0,56, respectively. Cluster analysis did not reveal a clear division of cultivars according to the place of origin (experiment stations of VIR), but revealed clustering according to pedigrees.

Заключение. Выявлен высокий уровень полиморфизма 35 сортов яблони селекции ВИР с использованием десяти SSR-маркеров. Данные об аллельном составе изученных сортов могут быть использованы для их идентификации и в дальнейшем для установления происхождения сортов с неизвестной родословной.

Ключевые слова: *Malus × domestica* Borkh., SSR-маркеры, генетическое разнообразие, генотипирование.

Conclusion. A high level of polymorphism was observed in 35 apple cultivars from VIR using ten SSR markers. The obtained data on the allelic composition of the studied cultivars can be used for their identification and contribute to more efficient collection management. Further studying and SSR genotyping of VIR's apple collection and comparison with the data obtained in the presented work can help to identify the origin of cultivars with unknown pedigrees.

Key words: *Malus × domestica* Borkh., SSR markers, genetic diversity, genotyping.

Введение

Коллекция яблони Всероссийского института генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова (ВИР) самая крупная в Российской Федерации и насчитывает более 3800 образцов, среди которых представлены виды рода *Malus* Mill., разновидности, формы, сорта отечественной и зарубежной селекции, староместные сорта, гибриды.

Сотрудниками опытных станций – филиалов ВИР, где поддерживается коллекция образцов яблони, в разные годы был создан ряд сортов с привлечением сохраняющихся в коллекции генотипов. Эти сорта соответствуют требованиям, которые предъявляет садоводство в регионе их создания. Кроме того, они интересны как источники ценных признаков для включения в селекционные программы. Так, сорта яблони селекции Крымской опытно-селекционной станции в настоящее время входят в районированный сортимент Северо-Кавказского региона России и являются хорошей альтернативой зарубежным сортам в промышленном плодоводстве. Их можно использовать и как источники высокой урожайности и устойчивости к основным грибным заболеваниям при создании новых сортов яблони (Eremin, 2008).

Современные подходы к сохранению и изучению генофонда плодовых культур включают в себя комплекс биометрических, биохимических и генетических методов. Сотрудниками опытных станций хорошо изучены морфологические и помологические признаки сортов яблони селекции ВИР. Следующий этап работы с данными сорта-

ми – изучение генетического разнообразия и создание генетических паспортов с использованием ДНК-маркеров.

Одним из часто используемых методов генотипирования сортов яблони, а также изучения их генетического разнообразия является метод SSR-(Simple Sequence Repeats)-маркирования, в основе которого лежит анализ вариабельности микросателлитных локусов генома. Поскольку на сегодняшний день для яблони известно значительное число микросателлитных маркеров с высоким уровнем полиморфизма (Liebhard et al., 2002; Silfverberg-Dilworth et al., 2006), данный метод успешно использовался при изучении генетического разнообразия и для генотипирования отечественных (Suprun et al., 2015; Kulikov et al., 2018; Pikunova et al., 2018) и зарубежных сортов яблони (Lassois et al., 2016; Pereira-Lorenzo et al., 2017; Baric et al., 2020).

Цель исследования – SSR-генотипирование 35 сортов яблони селекции ВИР и оценка их генетического разнообразия.

Полученные результаты могут быть использованы для подтверждения соответствия сорту при размножении и администрировании коллекционных насаждений яблони, а также для уточнения родословных сортов.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили 35 сортов яблони (*Malus × domestica* Borkh.), созданных на пяти опытных станциях ВИР, и четыре родительские формы, использованные при создании ряда сортов (табл. 1).

Таблица 1. Сорта яблони, использованные для анализа

Table 1. The studied apple cultivars

Название сорта (синоним) / Cultivar (synonym)	Номер по каталогу ВИР / VIR catalogue number	Происхождение / Origin
Крымская опытно-селекционная станция ВИР (КОСС ВИР)		
Белое Солнце	44979	клон сорта Pristine
Лето Красное	44999	клон сорта Dayton
Лучистое	45000	клон сорта Sunrise
Щедрость	45373	клон сорта Williams Pride
Золотой Поток	44989	клон сорта GoldRush
Кубаночка	45349	клон сорта Enterprise

Таблица 1. Продолжение
Table 1. Continued

Название сорта (синоним) / Cultivar (synonym)	Номер по каталогу ВИР / VIR catalogue number	Происхождение / Origin
Волгоградская опытная станция ВИР (ВОС ВИР)		
Малыченковское (Молодежное)	27861	Voiken × Жигулевское
Нижеволжское (Ароматическое)	22345	сеянец сорта Пипинка Литовская от свободного опыления
Майкопская опытная станция ВИР (МОС ВИР)		
Звездное	29311	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Зимнее МОС ВИР	12912	сеянец сорта Bramtot от свободного опыления
Иван Мичурин	23836	Melba × Бессемянка Мичуринская
Красное Зимнее	17343	Ренет Симиренко × McIntosh
Красное Кавказское	15264	Пармен Золотой × McIntosh
Николай Вавилов	15268	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Ноябрьское	15269	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Осень	15270	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Пармен Февральский	15215	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Подарок Шунтука	12913	McIntosh × Ренет Симиренко
Превосходное Шунтукское	17373	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Ребристое Желтое	15258	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Ренет Шунтукский	12911	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Румяное Большое	15272	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Увлечение	23849	сеянец сорта Золотое Превосходное от свободного опыления
Профессор Грюнер	15271	неизвестно, гибридный фонд МОС ВИР
Среднеазиатская опытная станция ВИР* (СОС ВИР)		
Зеленка ВИРа	21714	неизвестно, гибридный фонд СОС ВИР
Ренет ВИРа	21754	неизвестно, гибридный фонд СОС ВИР
Павловская опытная станция ВИР** (ПОС ВИР)		
Кордоновка	800	сеянец сорта Бельфлер-китайка от свободного опыления
Кормай	28082	сеянец сорта Wealthy от опыления пыльцой южных сортов
Краснощекое	9227	сеянец сорта Бельфлер-китайка от свободного опыления
Ленинградская Зеленка	9224	сеянец сорта Бельфлер-китайка от свободного опыления
Ленинградский Синап	891	сеянец сорта Бельфлер-китайка от свободного опыления
Ленинградское Желтое	9223	сеянец сорта Бельфлер-китайка от свободного опыления
Любимица Тарасенко	914	сеянец сорта Бельфлер-китайка от свободного опыления
Новогоднее	1045	сеянец сорта Бельфлер-китайка от свободного опыления
Пашкевича Красное	1143	сеянец сорта Бельфлер-китайка от свободного опыления

Таблица 1. Окончание

Table 1. The end

Название сорта (синоним) / Cultivar (synonym)	Номер по каталогу ВИР / VIR catalogue number	Происхождение / Origin
Родительские формы		
Бельфлер-китайка	204	Бельфлер Желтый × Китайка Крупноплодная
Жигулевское	15369	Боровинка × Wagener
Ренет Симиренко	65	происхождение неизвестно
Wealthy	631	сеянец вишнеплодной сибирской яблони

* – опытная станция ВИР до 1991 г. (Ташкент, Узбекская ССР).

** – с 2015 г. научно-производственная база «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР»

* – an experiment station (branch) of VIR until 1991 (Tashkent, Uzbekistan)

** – since 2015, Pushkin and Pavlovsk Laboratories of VIR

ДНК выделяли из свежих молодых листьев с использованием набора ZR Plant/Seed DNA Mini Prep (Zymo Research) согласно инструкции производителя.

Для проведения работы были отобраны 10 SSR-маркеров: *CH02c02b*, *CH03d01*, *CH01f03b*, *CH02d08*, *CH02c02a*, *CH05e03*, *CH02c09*, *CHVf1*, *CH01h01* и *COL* (Gianfranceschi et al., 1998; Liebhard et al., 2002; Vinatzer et al., 2004). Амплификацию отобранных для анализа SSR-локусов проводили в термоциклере T100 Thermal Cycler (BioRad) с использованием реактивов производства «Диалат Лтд.» и праймеров производства ЗАО «Евроген» согласно условиям, описанным L. Gianfranceschi с соавторами (1998). Прямые праймеры содержали флуоресцентную метку (R6G, 6-FAM или TAMRA).

Фрагментный анализ проводили на автоматическом генетическом анализаторе ABI Prism 3130xl в ООО «Синтол». Полученные результаты анализировали с использованием программ Peak Scanner v1.0 и GeneMapper v4.1 (Thermo Fisher Scientific).

Расчет частот аллелей, числа уникальных (частота встречаемости не более 1%) и редких (частота встречаемости не более 5%) аллелей, а также значений показателей наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности проводили с использованием макроса для MS Excel GenAlEx6.41 (Peakall, Smouse, 2012). Значение информативности микросателлитного локуса – PIC (Polymorphism Information Content) определяли с помощью программы PICcalculator (Nagy et al., 2012).

Расчет коэффициента генетического сходства Дайса между образцами проводили с использованием программы PAST 3.16 (Hammer et al., 2001). На основе коэффициента Дайса был проведен кластерный анализ методом Neighbor-Joining (NJ) в программе MEGA X (Kumar et al., 2018).

Результаты и обсуждение

У 35 проанализированных сортов яблони селекции ВИР было выявлено 97 аллельных вариантов по десяти изученным локусам. Количество аллелей на локус варьировало от 5 (*CH02c02b*) до 17 (*CH02c02a*) и в среднем составило 9,7 (табл. 2).

В каждом из изученных локусов были идентифицированы уникальные аллели, а для локусов *COL* и *CH02c02a*

удалось выявить шесть и четыре уникальных аллельных варианта соответственно (см. табл. 2). Частота уникальных аллелей составила 26,8%, редких аллелей – 12,4%. Уникальные аллели выявлены у 13 (37,1%) изученных сортов, а больше всего таких аллелей отмечено для сортов 'Белое солнце' (5), 'Зимнее МОС ВИР' (3) и 'Ренет Шунтукский' (3). Каждый из исследованных сортов яблони характеризовался уникальным для данной выборки набором аллелей по всем десяти изученным локусам, которые могут быть использованы для их идентификации.

Уровень информативности использованных для анализа микросателлитных маркеров был довольно высоким: среднее значение показателя PIC составило 0,76 и варьировало от 0,49 (для локуса *CH02c02b*) до 0,91 (для локуса *CH02c02a*). Показатели ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности для изученной выборки в среднем составили 0,79 и 0,56 соответственно (см. табл. 2).

Сравнение полученных данных с результатами других исследований отечественного и зарубежного генофонда яблони подтверждает, что полиморфизм микросателлитных локусов сортов яблони селекции ВИР достаточно высок. Так, при исследовании полиморфизма 12 SSR-локусов 31 современного отечественного сорта яблони селекции Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства (СКЗНИИСиВ) и Всероссийского научно-исследовательского института селекции плодовых культур (ВНИИСПК) было выявлено 93 аллеля (7,75 аллелей на локус), показатель PIC в среднем составил 0,72, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность – 0,78 и 0,75 соответственно (Suprun et al., 2015). Анализ 16 сортов яблони селекции Всероссийского селекционно-технологического института садоводства и питомниководства (ВСТИСП) по 10 SSR-локусам выявил 75 аллелей при среднем показателе информативности 0,72 и средних значениях $H_o = 0,838$ и $H_e = 0,752$ (Kulikov et al., 2018). В рамках масштабного исследования французской коллекции яблони для 1084 диплоидных генотипов с использованием 21 SSR-маркера найдены 410 аллелей, из них 228 редкие (55,6%), при средней информативности локуса 0,80 (Lassois et al., 2016). Анализ 737 генотипов яблони из испанской коллекции по 13 SSR-локусам позволил идентифицировать 242 аллеля (161 редкие), среднее значение

Таблица 2. Данные о полиморфизме SSR-локусов 35 сортов яблони селекции ВИР
Table 2. SSR loci polymorphism data for 35 apple cultivars developed at VIR

Лocus / Locus	Число аллелей* / Number of alleles	Диапазон размера фрагментов, пн / Fragment size range, bp	Число редких аллелей / Number of rare alleles	Число уникальных аллелей / Number of unique alleles	PIС	H _o	H _e
<i>CH02c02a</i>	17 (18)	132–233	3 (4)	4 (4)	0,91 (0,91)	0,66 (0,69)	0,92 (0,91)
<i>CH03d01</i>	9 (9)	87–112	0 (0)	2 (2)	0,76 (0,75)	0,17 (0,21)	0,78 (0,78)
<i>CH01f03b</i>	8 (8)	138–182	0 (0)	2 (2)	0,77 (0,77)	0,74 (0,77)	0,79 (0,79)
<i>CH02d08</i>	12 (12)	218–261	3 (2)	3 (3)	0,84 (0,83)	0,80 (0,79)	0,85 (0,85)
<i>CH02c02b</i>	5 (5)	76–125	0 (1)	2 (2)	0,49 (0,48)	0,34 (0,33)	0,58 (0,57)
<i>CH05e03</i>	10 (11)	158–202	3 (5)	3 (2)	0,74 (0,75)	0,43 (0,46)	0,77 (0,78)
<i>CH02c09</i>	9 (9)	236–260	1 (0)	1 (1)	0,84 (0,84)	0,60 (0,62)	0,86 (0,86)
<i>CHVf1</i>	7 (7)	135–174	1 (1)	1 (1)	0,72 (0,72)	0,69 (0,67)	0,75 (0,76)
<i>CH01h01</i>	8 (8)	113–131	0 (0)	2 (2)	0,77 (0,75)	0,69 (0,67)	0,79 (0,77)
<i>COL</i>	12 (12)	208–246	1 (1)	6 (6)	0,75 (0,71)	0,51 (0,49)	0,73 (0,73)
Всего	97 (99)	–	12 (14)	26 (25)	–	–	–
Среднее значение	9,7 (9,9)	–	1,2 (1,4)	2,6 (2,5)	0,76 (0,75)	0,56 (0,57)	0,79 (0,78)

* в скобках указаны показатели для всей изученной выборки (39 образцов)

PIС – информативность локуса; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_e – ожидаемая гетерозиготность

* values for the entire analyzed set are parenthesized (39 accessions)

PIС – polymorphism information content; H_o – observed heterozygosity; H_e – expected heterozygosity

показателя ожидаемой гетерозиготности составило 0,81 (Pereira-Lorenzo et al., 2017). SSR-генотипирование 600 образцов яблони, включая диплоидные и триплоидные старые и современные сорта и подвои, по 14 микросателлитным локусам позволило выявить в среднем 19,4 аллеля на локус, при этом значение показателя информативности варьировало от 0,750 до 0,897, а среднее значение наблюдаемой гетерозиготности составило 0,84 (без локуса *COL*) (Baric et al., 2020).

Достаточно высокий уровень полиморфизма среди 35 сортов яблони селекции ВИР может быть связан с широким разнообразием исходного материала, использованного при их создании. Коллекция яблони ВИР крупнейшая в РФ, одна из крупнейших в мире и предоставляет большое разнообразие ценных сортов и форм для селекции. Для создания сортов изученной выборки был использован материал различного происхождения, включая как современные, так и стародавние отечественные и зарубежные сорта. Например, сорта Крымской опытно-селекционной станции являются почковыми мутантами сортов, созданных в 1990-е гг. в США и Канаде,

а для получения других сортов изученной выборки были использованы старые отечественные и зарубежные сорта ('Бельфлер-китайка', 'Бессемянка Мичуринская', 'Ренет Симиренко', 'McIntosh', 'Melba', 'Wealthy' и др.) (см. табл. 1). Кроме того, для яблони в целом отмечается высокий уровень гетерозиготности и полиморфизма генома, связанный со сложным гибридным происхождением данной культуры (Pease et al., 2019).

Для 39 изученных образцов, включавших сорта селекции ВИР и четыре родительские формы, были рассчитаны показатели коэффициента попарного генетического сходства Дайса, среднее значение которого составило 0,30. Максимальное сходство (0,88) было отмечено для сортов 'Ленинградская Зеленка' и 'Кордоновка' (ПОС ВИР). Также высокий уровень сходства отмечен между сортами 'Кордоновка' и 'Ленинградский Синап', 'Ленинградская Зеленка' и 'Ленинградский Синап' (0,77) (ПОС ВИР). Минимальный уровень сходства (0) выявлен для 12 пар сортов, которые полностью отличаются по аллельному составу. При этом 10 пар включают сорт 'Зимнее МОС ВИР'.

На основании полученных данных была построена дендрограмма, на которой исследуемые образцы яблоки образуют три основных кластера (рисунок). Первый кластер объединяет шесть сортов Павловской опытной станции, сорт селекции И. В. Мичурина 'Бельфлер-китайка', а отдельный подкластер формируют два сорта Майкопской опытной станции – 'Зимнее МОС ВИР', имевшие наи-

меньшие уровни сходства с другими и сорт 'Подарок Шунтука'. Второй кластер формируют девять сортов Майкопской и четыре сорта Крымской опытно-селекционной станции, а также сорт 'Краснощекое' Павловской опытной станции. Третий кластер включает 16 образцов, в том числе сорта Волгоградской, Среднеазиатской опытных станций, пять сортов Майкопской опытной станции и по

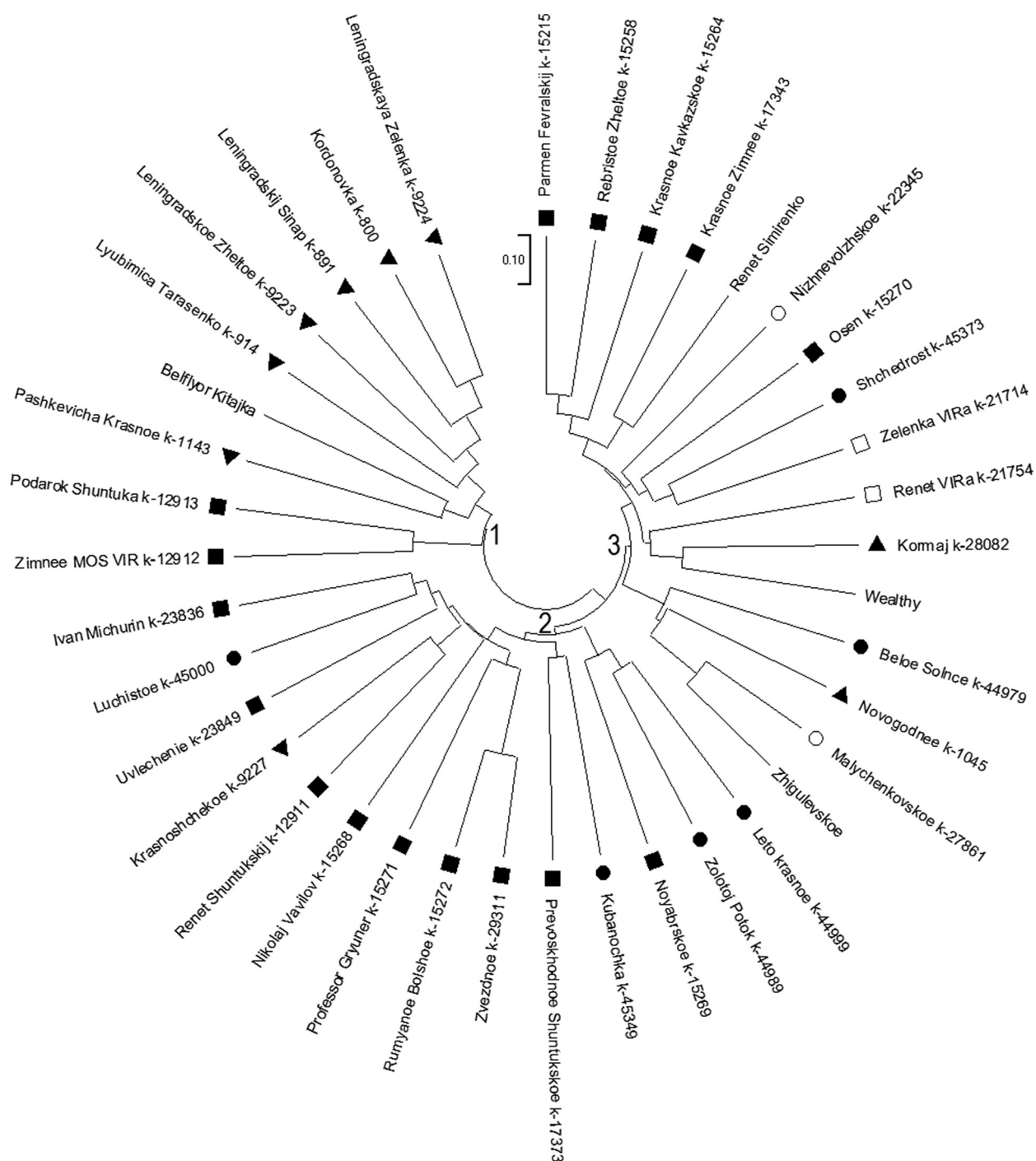


Рисунок. Дендрограмма, построенная по данным анализа полиморфизма микросателлитных локусов сортов яблоки методом Neighbor-Joining:

- – сорта Крымской опытной станции; ○ – сорта Волгоградской опытной станции; ■ – сорта Майкопской опытной станции; □ – сорта Среднеазиатской опытной станции; ▲ – сорта Павловской опытной станции

Figure. Dendrogram based on microsatellite loci polymorphism data of apple cultivars, constructed using the Neighbor-Joining method:

- – cultivars of Krymsk Experiment Breeding Station; ○ – cultivars of Volgograd Experiment Station; ■ – cultivars of Maikop Experiment Station; □ – cultivars of the former Central Asian Branch of VIR; ▲ – cultivars of Pavlovsk Experiment Station

два сорта Павловской и Крымской опытных станций. Кроме того, в данный кластер попадают сорта 'Жигулевское', 'Ренет Симиренко' и 'Wealthy' (см. рисунок).

Таким образом, кластеризации по месту происхождения сортов не наблюдалось, что может быть связано с разнообразием материала, использованного для их получения на опытных станциях ВИР.

В то же время наблюдалась кластеризация сортов по родословным, для подтверждения которых в анализ были взяты некоторые родительские формы (см. табл. 1). Так, сорт 'Жигулевское' кластеризуется вместе с сортом 'Мальченковское', сорт 'Ренет Симиренко' – с сортом 'Красное Зимнее', 'Wealthy' – с сортом 'Кормай' (см. рисунок).

Кроме того, совместно кластеризуются шесть сортов Павловской опытной станции: 'Кордоновка', 'Ленинградская Зеленка', 'Ленинградский Синап', 'Ленинградское Желтое', 'Любимица Тарасенко' и 'Пашкевича Красное' и сорт 'Бельфлер-китайка', от свободного опыления которого произошли вышеперечисленные сорта. Однако сорта 'Краснощекое' и 'Новогоднее', также полученные от свободного опыления сорта 'Бельфлер-китайка', на дендрогamme попадают в другие кластеры.

Для двенадцати изученных сортов селекции ВИР неизвестны родительские формы (см. табл. 1), поскольку коллективы авторов, создавших эти сорта, изначально не предоставили такой информации. Полученные данные по аллельному разнообразию SSR-локусов позволяют предположить общность происхождения некоторых сортов с неизвестной родословной, например 'Звездное' и 'Румяное Большое' селекции Майкопской опытной станции. Дальнейшее изучение образцов яблони из коллекции ВИР с использованием SSR-маркеров сможет позволить определить родословные этих сортов.

Заключение

Таким образом, впервые проведенное исследование генетического разнообразия сортов яблони селекции ВИР с использованием десяти микросателлитных маркеров позволило выявить достаточно высокий уровень их полиморфизма. Полученные данные об аллельном составе изученных сортов могут быть использованы для их идентификации, в том числе при работе с коллекцией (размножение, перезакладка, передача образцов). Дальнейшее изучение и SSR-генотипирование коллекции яблони ВИР и сравнение с полученными в представленной работе данными может позволить установить происхождение сортов, родительские формы которых неизвестны.

Работа выполнена в рамках государственного задания согласно бюджетным проектам ВИР по теме № 0662-2020-0004 «Коллекции ВИР вегетативно размножаемых культур (картофель, плодовые, ягодные, декоративные, виноград) и их диких родичей – изучение и рациональное использование» и при поддержке гранта РФФИ 17-29-08020.

The work was done within the framework of the State Task according to the theme plan of VIR, Project No. 0662-2019-0004 "Collections of vegetatively propagated crops (potato, fruit, berry and ornamental crops, grapes) and their relatives at VIR: studying and sustainable utilization", and supported by the grant from the Russian Foundation for Basic Research, No. 17-29-08020.

References / Литература

- Baric S., Storti A., Hofer M., Guerra W., Dalla Via J. Molecular genetic identification of apple cultivars based on microsatellite DNA analysis. I. The database of 600 validated profiles. *Erwerbsobstbau*. 2020;62(2):117-154. DOI: 10.1007/s10341-020-00483-0
- Eremin G.V. (ed.). Atlas of the best varieties of fruit and berry crops in Krasnodar Territory. Vol. 1. Apple tree (Atlas luchshikh sortov plodovykh i yagodnykh kultur Krasnodarskogo kraia. T. 1. Yablonya). Krasnodar; 2008. [in Russian] (Атлас лучших сортов плодовых и ягодных культур Краснодарского края. Т. 1. Яблоня / под ред. Г. В. Еремина. Краснодар; 2008).
- Gianfranceschi L., Seglias N., Tarchini R., Komjanc M., Gessler C. Simple sequence repeats for the genetic analysis of apple. *Theoretical and Applied Genetics*. 1998;96(8):1069-1076. DOI: 10.1007/s001220050841
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica*. 2001;4(1):9.
- Kulikov I.M., Kudryavtsev A.M., Marchenko L.A., Morozova N.G., Boris K.V., Trifonova A.A. et al. Polymorphism of microsatellite loci of apple varieties (*Malus domestica* Borkh.) of ARHIBAN contemporary breeding. *Horticulture and Viticulture*. 2018;(1):6-10. [in Russian] (Куликов И.М., Кудрявцев А.М., Марченко Л.А., Морозова Н.Г., Борис К.В., Трифонова А.А. и др. Полиморфизм микросателлитных локусов сортов яблони (*Malus domestica* Borkh.) современной селекции ФГБНУ ВСТИСП. *Садоводство и виноградарство*. 2018;(1):6-10). DOI: 10.25556/VSTISP.2018.1.10495
- Kumar S., Stecher G., Li M., Nknyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018;35(6):1547-1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096
- Lassois L., Denancé C., Ravon E., Guyader A., Guisnel R., Hibrand-Saint-Oyant L. et al. Genetic diversity, population structure, parentage analysis, and construction of core collections in the French apple germplasm based on SSR markers. *Plant Molecular Biology Reporter*. 2016;34(4):827-844. DOI: 10.1007/s11105-015-0966-7
- Liebhart R., Gianfranceschi L., Koller B., Ryde C.D., Tarchini R., Van De Weg E. et al. Development and characterization of 140 new microsatellites in apple (*Malus × domestica* Borkh.). *Molecular Breeding*. 2002;10(4):217-241. DOI: 10.1023/A:1020525906332
- Nagy S., Pocza P., Cernák I., Gorji A.M., Hegedüs G., Taller J. PICcalc: an online program to calculate polymorphic information content for molecular genetic studies. *Biochemical Genetics*. 2012;50(9-10):670-672. DOI: 10.1007/s10528-012-9509-1
- Peace C.P., Bianco L., Troglio M., Van De Weg E., Hovard N.P., Cornill A. et al. Apple whole genome sequences: recent advances and new prospects. *Horticulture Research*. 2019;6:59. DOI: 10.1038/s41438-019-0141-7
- Peakall R., Smouse P.E. GenALEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*. 2012;28(19):2537-2539. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts460
- Pereira-Lorenzo S., Urrestarazu J., Ramos-Cabrer A.M., Miranda C., Pina A., Dapena E. et al. Analysis of the genetic diversity and structure of the Spanish apple genetic resources suggests the existence of an Iberian gene pool. *Annals of Applied Biology*. 2017;171(3):424-440. DOI: 10.1111/aab.12385

Pikunova A.V., Sedov E.N., Gorbachova N.G., Dolzhikova M.A., Yanchuk T.V., Serova Z.M. et al. Microsatellite loci polymorphism of apple (*Malus domestica* Borkh.) genotypes with different ploidy level. *Russian Journal of Genetics*. 2018;54(4):442-450. DOI: 10.1134/S1022795418040129

Silfverberg-Dilworth E., Matasci C.L., Van de Weg W.E., Van Kaauwen M.P.W., Walser M., Kodde L.P. et al. Microsatellite markers spanning the apple (*Malus × domestica* Borkh.) genome. *Tree Genetics and Genomes*. 2006;2:202-224. DOI: 10.1007/s11295-006-0045-1

Suprun I.I., Ushakova Ya.V., Tokmakov S.V., Durel Ch.E., Denance C., Ul'yanovskaya E.V. Genetic diversity study of modern Russian apple (*Malus × domestica* Borkh.) cultivars by the SSR loci analysis. *Agricultural Bio-*

logy. 2015;50(1):37-45. [in Russian] (Супрун И.И., Ушакова Я.В., Токмаков С.В., Дюрель Ч.Э., Денанс К., Ульяновская Е.В. Изучение генетического разнообразия современных сортов яблони (*Malus × domestica* Borkh.) отечественной селекции с использованием микросателлитных локусов. *Сельскохозяйственная биология*. 2015;50(1):37-45). DOI: 10.15389/agrobiology.2015.1.37rus

Vinatzer B.A., Patocchi A., Tartarini S., Gianfranceschi L., Sansavini S., Gessler C. Isolation of two microsatellite markers from BAC clones of the *Vf* scab resistance region and molecular characterization of scab-resistant accessions in *Malus* germplasm. *Plant Breeding*. 2004;123(4):321-326. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2004.00973.x

Прозрачность финансовой деятельности / The transparency of financial activities

Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

The authors declare the absence of any financial interest in the materials or methods presented.

Для цитирования / How to cite this article

Шлявас А.В., Трифонова А.А., Чепинога И.С., Сиднин А.С., Борис К.В. Анализ вариабельности микросателлитных локусов сортов яблони селекции ВИР. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 2021;182(3):151-158. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-151-158

Shlyavas A.V., Trifonova A.A., Chepinoga I.S., Sidnin A.S., Boris K.V. Microsatellite loci variability in apple cultivars developed at VIR. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2021; 182(3):151-158. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-151-158

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы / The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work

Дополнительная информация / Additional information

Полные данные этой статьи доступны / Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.30901/2227-8834-2021-3-151-158>

Мнение журнала нейтрально к изложенным материалам, авторам и их месту работы / The journal's opinion is neutral to the presented materials, the authors, and their employer

Авторы одобрили рукопись / The authors approved the manuscript

Конфликт интересов отсутствует / No conflict of interest

ORCID

Shlyavas A.V. <https://orcid.org/0000-0002-8009-6780>

Trifonova A.A. <https://orcid.org/0000-0001-9618-5932>

Chepinoga I.S. <https://orcid.org/0000-0001-7215-9908>

Sidnin A.S. <https://orcid.org/0000-0001-6505-7372>

Boris K.V. <https://orcid.org/0000-0002-8479-4949>