

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ ПРОБЛЕМ

Научная статья
УДК 634.13:631.525.32:577.21(475)
DOI: 10.30901/2227-8834-2025-3-231-244



Систематизация национальной коллекции груши с использованием набора SSR-маркеров, рекомендованного ECPGR

Т. Н. Марцинкевич, О. А. Якимович, Ю. Г. Кондратенко, Н. В. Кухарчик, А. Н. Рымко²

¹ Институт плодоводства, Самохваловичи, Беларусь

² Общество с ограниченной ответственностью «АртБиоТех», Минск, Беларусь

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Николаевна Марцинкевич, 87martany@gmail.com

Актуальность. Содержание коллекций плодовых культур надлежащим образом предполагает использование значительных материальных ресурсов. Одна из важнейших задач – нахождение и удаление дублирующих образцов. Целью данной работы являлась оценка коллекционных образцов груши на предмет уникальности или тождественности тому или иному генотипу, а также оценка работоспособности маркерной системы, рекомендованной ECPGR.

Материалы и методы. Объектом исследования были девять образцов груши, полученные из экспедиций по Республике Беларусь, и пять сортов-контролей из селекционных станций и научно-исследовательских институтов. Идентификация данных объектов проведена методом SSR-анализа с использованием 12 маркеров.

Результаты. Установлена принадлежность ряда образцов коллекции груши Института плодоводства, поступивших из разных источников, к сортам 'Талгарская Красавица', 'Clapp Favorite', 'Doyenné du Comice' и 'Vasarine Sviestine' и определена уникальность сортов 'Подарок Краснокутский' и 'Семеновская'. При проведении молекулярно-генетического анализа приоритетные маркеры EMPc117, EMPc11, CH04e03, CH01f07a, CH01d08, CH01d09, GD147, CH05c06 и CH03d12 показали высокую эффективность. Уровень аллельного полиморфизма (*He*) варьировал в пределах от 0,52 до 0,89, в среднем это составило 0,77 единиц. Значение информативных аллелей – 5,44, общее число выявленных – 96, со средним значением на маркер – 8. Рассчитанные параметры по данным маркерам у изученных сортов согласуются с результатами анализа других авторов из Швеции, Германии, Англии, что крайне важно при сравнении коллекций растений из различных баз данных.

Ключевые слова: груша, сорт, идентификация, SSR-маркирование, кластерный анализ, Беларусь

Благодарности: работа выполнена в рамках Государственной программы «Научно-инновационная деятельность Национальной академии наук Беларуси» на 2021–2025 гг., подпрограммы 03 «Изучение, идентификация и рациональное использование коллекций генетических ресурсов растений».

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Для цитирования: Марцинкевич Т.Н., Якимович О.А., Кондратенко Ю.Г., Кухарчик Н.В., Рымко А.Н. Систематизация национальной коллекции груши с использованием набора SSR-маркеров, рекомендованного ECPGR. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2025;186(3):231-244. DOI: 10.30901/2227-8834-2025-3-231-244

IDENTIFICATION OF THE DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES FOR SOLVING FUNDAMENTAL AND APPLIED PROBLEMS

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2025-3-231-244

Using a set of SSR markers chosen by the ECPGR to systematize the national pear collection

Tatsiana M. Martsynkevich¹, Volha A. Yakimovich¹, Julia G. Kandratsenak¹, Natallia V. Kukharchyk¹, Aliaksandr M. Rymko²

¹ *Institute for Fruit Growing, Samokhvalovich, Belarus*

² *ArtBioTech Limited Liability Company, Minsk, Belarus*

Corresponding author: Tatsiana M. Martsynkevich, 87martany@gmail.com

Background. According to international requirements, maintenance of a fruit crop collection involves the use of significant material resources. One of the most important tasks is to prevent duplicate samples from entering the collection. The genetic uniqueness and identity of pear accessions preserved at the Institute for Fruit Growing were studied with SSR markers recommended by the ECPGR.

Materials and methods. The material of the study included 9 pear accessions obtained from expeditions in the Republic of Belarus and 5 control cultivars from breeding stations and research institutes. Their identification was carried out with the SSR analysis method, using 12 markers.

Results. This analysis ascertained that a number of accessions received from other institutions and from amateurs, with different names, were in fact cvs. 'Talgarskaya Krasavitsa', 'Clapp Favorite', 'Doyenné du Comice', and 'Vasarine Sviestine'. Besides, the uniqueness was proved for cvs. 'Podarok Krasnokutsky' and 'Semenovskaya'. Priority markers (EMPc117, EMPc11, CH04e03, CH01f07a, CH01d08, CH01d09, GD147, CH05c06 and CH03d12) showed a high level of efficiency during the molecular genetic analysis. As a result, a total of 96 alleles were identified with the mean number of 8.0 alleles per marker; the mean number of informative alleles was 5.44. Based on the results obtained by mathematical calculations (*He*, *EMR*, and *MI*), the EMPc117 primer was found to be more effective. The *He* for the 12 SSR primers varied between 0,52–0,89, averaging 0,77 units. The calculated parameters for these markers in the studied cultivars were found to be consistent with the analysis results of other authors from Sweden, Germany, and England, which is extremely important when comparing plant collections from different databases.

Keywords: pear, cultivar, identification, SSR markers, cluster analysis, Belarus

Acknowledgements: the work was carried out within the framework of the State Program "Scientific and Innovative Activities of the National Academy of Sciences of Belarus" for 2021–2025, subprogram 03 "Study, Identification and Rational Use of Collections of Plant Genetic Resources".

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

For citation: Martsynkevich T.M., Yakimovich V.A., Kandratsenak Yu.G., Kukharchyk N.V., Rymko A.M. Using a set of SSR markers chosen by the ECPGR to systematize the national pear collection. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2025;186(3):231-244. (In Russ.). DOI: 10.30901/2227-8834-2025-3-231-244

Введение

Генетические ресурсы в странах-держателях являются основным источником качественного исходного материала для создания высокопродуктивных сортов, способных успешно противостоять меняющимся условиям (изменение климата, распространение новых болезней и вредителей) и в то же время соответствовать ожиданиям потребителей.

Коллекция плодовых, ягодных, орехоплодных культур и винограда Института плодоводства является крупнейшей в Республике Беларусь и признана объектом Национального достояния. В настоящее время общий генофонд насчитывает пять с половиной тысяч образцов, из них порядка семисот сортов груши (Kazlouskaya, Yakimovich, 2019).

Пополнение генетических ресурсов в нашей стране, как и во многих других, тесно связано с проблемой дублирования образцов и неправильных названий, возникающей по разным причинам (Sehic et al., 2012). В Беларуси это связано с тем, что коллекции частично пополняются образцами с неизвестными или ошибочными названиями от садоводов-любителей, по результатам экспедиционных обследований. В Боснии и Герцеговине эта проблема существует из-за частой миграции населения Балканского полуострова на протяжении всей истории, которые сопровождалась перемещением генетических ресурсов, часто с измененными названиями отдельных сортов (Đurić et al., 2009; Zeljković et al., 2019). Результатом такого положения дел является неэффективная гибридизация, пустая трата ресурсов и в целом снижение уровня генетического разнообразия.

Для исключения проблемы дублирования и содержания коллекции надлежащим образом, включая качественное обследование, инвентаризацию, ведение документации согласно международным требованиям, информирование общественности, необходимо использовать наиболее объективные методы изучения коллекционного материала. В прошлом эту роль выполняли морфологические методы, сейчас незаменимым инструментом в выполнении поставленных задач являются методы молекулярной генетики, а именно использование молекулярных маркеров (De Andres et al., 2007; Nybom, Weising, 2010).

Внедрение молекулярных маркеров позволило сделать определение свойств генофонда более целенаправленным, менее зависимым от окружающей среды и более информативным. Молекулярные исследования позволяют изучать эволюцию, происхождение, пloidность различных видов и культурных сортов, оценивать генетическое разнообразие и понимать происхождение местного и интродуцированного сортифта плодовых (Nadeem et al., 2018).

Одними из наиболее распространенных и популярных молекулярных маркеров при оценке генетических ресурсов являются простые повторы последовательностей (SSR) благодаря многим ценным свойствам – высокой частоте мутаций, locus-специфичности, высокому полиморфизму и воспроизводимости; они многоаллельны и используются для анализа родственных таксонов (Yamamoto et al., 2002; Taheri et al., 2018).

Молекулярные исследования для оценки генетического разнообразия генофонда груши проводились во многих странах мира: Беларуси (Urbanovich et al., 2011), Боснии и Герцеговине (Gasi et al., 2013; Zeljković et al., 2021), Грузии (Asanidze et al., 2014), Германии (Reim et al.,

2016), Италии (Ferradini et al., 2017), Японии (Nishio et al., 2016), Польше (Wolko et al., 2014), Португалии (Kocsisné et al., 2020), Испании (Alonso Segura et al., 2021) и Тунисе (Ouni et al., 2020). Основной тематикой данных исследований было изучение местных сортов, сравнение диких родственников, перспективных сортов и других видов *Pyrus* L., а также изучение проблем, связанных с биологическим разнообразием каждой страны.

Общий набор SSR-маркеров, определенный Европейской программой сотрудничества в области генетических ресурсов растений (ECPGR) для скрининга сортов груши (Evans et al., 2009; Sehic et al., 2012), дает возможность сравнить полученные генетические профили сортообразцов с аналогичными, полученными в лабораториях других стран, и обусловил их выбор для нашего исследования, целью которого являлась оценка коллекционных образцов груши на предмет уникальности или тождественности, а также оценка работоспособности данной маркерной системы.

Материалы и методы

Объектом для ДНК-маркирования были 9 образцов груши, полученные из экспедиций по Республике Беларусь (Kazlouskaya et al., 2021), контролями выбрали пять сортов из селекционных станций и научно-исследовательских институтов. Данные об источнике получения образцов представлены в таблице 1.

ДНК экстрагировали из свежих молодых листьев (навеска 100 мг). Растительный материал замораживали в жидком азоте, гомогенизировали и выделяли ДНК с помощью набора Genomic DNA Purification Kit (Fermentas) согласно рекомендованному производителем протоколу. Качество и концентрацию ДНК определяли методом электрофореза в 1,5-процентном агарозном геле путем сравнения со стандартами с известной концентрацией (50 ng, 100 ng, 200 ng, 400 ng). Фиксацию результатов проводили с помощью системы Imagine ChemiDocXRS (Bio-Rad Laboratories, США). Детекция результатов экстракции показывала высокое содержание ДНК в пробах.

В работе использовано 12 микросателлитных маркеров, сгруппированных 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 (Bu5, Bu5,5): 1-й набор: A(CH01c06), B(CH02c02b); 2-й набор: E(CH03d12), F(SdSSR); 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). Восемь из числа исследуемых маркеров взяты нами из набора приоритетных (ECPGR) и 4 SSR маркера – из числа рекомендованных белорусскими исследователями для сортов и гибридов груши (Urbanovich et al., 2011).

Последовательности праймеров для молекулярных маркеров, использованных в нашем исследовании, приведены в таблице 2.

Для проведения реакции амплификации каждый образец брали в концентрации 50 ng/μl. 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

Таблица 1. Объекты исследования

Table 1. Objects of research

Сорт, образец / Cultivar or accession	Год поступления в коллекцию / Year of entering the collection	Источник получения образца / Pear germplasm supplier
Контрольные сорта / Control cultivars		
‘Деканка дю Комис’ ('Doyenne du Comice')	1959	Майкопская опытная станция – филиал ВИР (Россия, Республика Адыгея, Майкоп)
‘Любимица Клаппа’ ('Clapp Favorite')	1949	Донецкая опытно-селекционная станция, сейчас Артемовский научно-исследовательский центр Института садоводства УААН (Украина, Артемовск)
‘Маслянистая Летняя’ ('Vasarine Sviestine')	1965	Витенская плодовоовощная опытная станция (Vytėnų bandymų stotis), сейчас НИИ плодовоощеводства, (Sodininkystės ir daržininkystės institutas) (Литва, Бабтай);
	1997	повторно из Pûre Horticultural Research Centre (Pûre HRC) (Латвия, Пуре)
‘Подарок Краснокутский’	1984	Гродненский зональный институт растениеводства НАН Беларуси (Беларусь, Щучин)
‘Талгарская Красавица’	1997	Pûre Horticultural Research Centre (Pûre HRC) (Латвия, Пуре).
Исследуемые образцы / Studied accessions		
Адампаль	2017	Ситник В. И., Гродненская обл.
Бере Слуцкая	2018	Ушаков, Минская обл., Копыль
Груша Авдитовского	2017	Авдитовский, Гродненская обл.
Груша Шумского	2017	Шумский И. П., Могилевская обл., Елизово
Анджелейс	2014	Конюшик А. И., Брест
Марианна	2013	Гомельская обл.
Нагима	2018	Казахский НИИ плодководства и виноградарства, Казахстан, Алматы
Семеновская	2014	Семенова З. А. Минский р-н., Самохваловичи
Эйсманты	2017	Гродненская обл., Эйсманты

Touch CFX96 (Applied Biosystems, USA). Продукты амплификации разделяли в 1,5-процентном агарозном геле в трис-ацетатном буфере. Фрагментный анализ проводили на генетическом анализаторе GenomeLab GEXP – Beckman Coulter (США) согласно рекомендациям фирмы-производителя. Данные обрабатывали в программе GeneMarker V.2.7.4.

Для оценки изменчивости изучаемых локусов и генетического разнообразия генотипов груши провели статистический анализ ряда параметров, в их числе: количество выявленных аллелей (number of detected alleles, N_a), наблюдаемая гетерозиготность (observed heterozygosity, H_o), количество эффективных аллелей (number of effective alleles, N_e) и ожидаемая гетерозиготность (expected heterozygosity, H_e), рассчитываемые по опубликованным формулам (Nei, Roychoudhury, 1974) с помощью пакета программ Excel:

$$H_e = 1 - \sum (p_i)^2,$$

$$N_e = 1 / \sum (p_i)^2,$$

где p_i – частота встречаемости i -ого аллеля.

Для анализа информативности маркерной системы в целом использовали эффективное мультиплексное отношение (effective multiplex ratio, EMR) и маркерный индекс (marker index, MI), рассчитывая данные величины для каждого праймера в отдельности.

После определения длины синтезированных фрагментов и числа аллелей в каждом локусе, выбрав бинарную нумерацию, наличие аллеля в образце отмечали «1», отсутствие – «0».

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

Результаты

В ходе исследования у 14 образцов груши с помощью набора SSR-маркеров идентифицировано 96 фрагментов, из них 67 (70%) – полиморфные, 29 – мономорфные

Таблица 2. Сет праймеров, использованный для ДНК-идентификации сортов груши

Table 2. The set of primers used for DNA identification of pear cultivars

№ / No.	Праймеры / Markers	Последовательность олигонуклеотидов (F+R) / Sequence of oligonucleotides (F+R)	Метка / Label	Размер аллелей в пн / Allele size, bp	Температура, °C / Tm, °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
E	CH03d12	5'-GCCCAGAAGCAATAAGTAAACC-3' 5'-ATTGCTCCATGCATAAAGGG-3'	By5,5	109–125	53
F	SdSSR	5'-GAATTCTCGTCCCTTCATCTC-3' 5'-GTTCTTAGCCTCCCATTTCTG-3'	By5	159–211	52
G	CH05c06	5'-ATTGGAACCTCTCCGTATTGTGC-3' 5'-ATCAACAGTAGTGGTAGCCGGT-3'	By5	88–118	55
H	EMPc11	5'-GCGATTAAAGATCAATAAACCCATA-3' 5'-AAGCAGCTGGTTGGTGAAT-3'	By5,5	140–55	51
J	EMPc117	5'-GTTCTATCTACCAAGCCACGCT-3' 5'-CGTTTGTGTGTTTACGTGTG-3'	By5	99–119	53
K	CH01d09	5'-GCCATCTGAACAGAATGTGC-3' 5'-CCCTTCATTCACATTTCCAG-3'	By5,5	133–156	51
L	CH04e03	5'-TTGAAGATGTTTGGCTGTGC-3' 5'-TGCATGTCTGTCTCTCCAT-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

(30%). Количество выявленных аллелей (N_a) на маркер колебалось от 3 до 12. В среднем одним маркером синтезировалось 8 фрагментов. Число фрагментов в одном локусе составляло 1–2, длина полученных фрагментов менялась в пределах 90–280 нуклеотидных пар. Наибольшее количество ампликонов получено с помощью маркеров CH02c02b, CH03d12, EMPc117, минимальное количество – маркерами CH04e03, CH01D08 (табл. 3).

По данным таблицы 3, самый высокий уровень аллельного полиморфизма (H_e) наблюдался в локусах CH03d12 и EMPc117 и составил 0,89. Наименьшее значение полиморфизма отмечено для маркеров CH04e03, GD147 – 0,52 и CH01D08 – 0,64. Эффективное число аллелей (N_e) было максимальным в этих же локусах CH03d12, EMPc117 и минимальным в CH04e03, GD147. Так как данные величины у рассмотренных локусов были пропорциональны, это доказало хорошую информативность маркеров и высокий уровень полиморфизма микросателлитных последовательностей в геноме груши.

Наблюдаемый уровень гетерозиготности (H_o) у исследуемых сортов груши характеризовался относительно высоким уровнем и варьировал от 0,14 до 1. Максимальное значение получено для локуса EMPc117 – 1. Минимальное – у CH04e03, GD147, CH01F07a. Но для локуса

CH01D08 этот показатель имел нулевое значение, что отразилось на среднем значении H_o по всему набору и составило 0,29. Такое среднее показание наблюдаемого уровня гетерозиготности может быть связано с малой выборкой образцов или с наличием нулевых аллелей, которые возникают из-за мутаций на сайтах праймеров и, соответственно, не могут быть амплифицированы (нуль-аллели), что приводит к ложным гомозиготам (Galinskaya et al., 2019).

Маркерный индекс MI и эффект мультиплексного коэффициента EMR являются статистическими величинами, используемыми для оценки суммарной пригодности маркерной системы. И чем выше значения MI и EMR для методики, тем она лучше. Параметр MI менялся в пределах от 0,13–7,18, а EMR – в пределах 0,26–8,16, средние их показатели были соответственно 1,17 и 1,37. Максимальные значения MI и EMR отмечены у праймера EMPc117, минимальные – по маркерному индексу у GD147, по эффекту мультиплексного коэффициента у GD147 и CH04e03. В целом между количеством синтезируемых фрагментов (N_a) и параметрами количества полиморфных фрагментов (EMR), (MI) наблюдалась положительная корреляция, что свидетельствовало о хорошей пригодности системы.

Таблица 3. Статистические параметры образцов груши, полученные SSR-маркерами**Table 3. Statistical parameters of pear accessions obtained with SSR markers**

Параметры / Index Праймеры / Markers	<i>Na</i>	<i>Ne</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>EMR</i>	<i>MI</i>
CH01c06	7	4,38	0,28	0,78	0,88	0,68
CH02c02b	12	7,53	0,5	0,86	2,33	2,00
CH03d12	12	9,53	0,28	0,89	0,88	0,78
SdSSR	7	5,14	0,14	0,81	0,33	0,26
CH05c06	8	4,74	0,14	0,79	0,25	0,19
EMPC11	11	7,04	0,28	0,86	0,88	0,75
EMPC117	12	8,47	1	0,89	8,16	7,18
CH01d09	10	6,75	0,42	0,85	1,99	1,69
CH04e03	3	2,08	0,14	0,52	0,26	0,14
GD147	5	2,1	0,14	0,52	0,26	0,13
CH01F07a	6	4,79	0,14	0,79	0,28	0,20
CH01D08	3	2,78	0	0,64	0	0
Vсero / Total	96	65,33	3,46	9,19	16,5	14,05
Среднее значение / Mean value	8,00	5,44	0,29	0,77	1,37	1,17

Примечание: *Na* – количество выявленных аллелей; *Ne* – эффективное число аллелей; *Ho* – наблюдаемая гетерозиготность; *EMR* – эффективное мультиплексное отношение; *MI* – маркерный индекс

Note: *Na* is the number of detected alleles; *Ne* is the number of effective alleles; *Ho* is the observed heterozygosity; *He* is the expected heterozygosity; *EMR* is the effective multiplex ratio; *MI* is the marker index

Рассчитанные параметры позволили сравнить полученные нами данные по нескольким общим маркерам (ECPGR) у изученных сортов с используемыми в других исследованиях авторами для анализа своих коллекций: из Швеции – J. Sehic с соавторами (Sehic et al., 2012); Англии – K. M. Evans с соавторами (Evans et al., 2009); Германии – H. Xuan с соавторами (Xuan et al., 2010).

Так, в исследованиях J. Sehic было 9 SSR-маркеров: EMPc117, EMPc11, CH04e03, CH01f07a, CH01d08, CH01d09, GD147, CH05c06 и CH03d12, которые рассматривались и в нашей работе. В статье (Sehic et al., 2012) для анализа выборки из 50 образцов по маркерам CH04e03 и CH01d08 выявлено 6 и 7 аллелей соответственно – это наименьшие значения из исследованных ими SSR-маркеров по шведской коллекции. В нашем исследовании по этим же локусам также отмечен наиболее низкий уровень полиморфизма, амплифицировалось только 3 аллеля. Маркеры EMPc117, CH01d09, CH01f07a и CH03d12, аналогично дававшие самые высокие значения – 12, 15, 14 и 9 аллелей на локус, показали идентично высокий результат и в нашей работе.

Таким образом, данный набор приоритетных маркеров ECPGR действительно дает возможность сопоставить результаты и, следовательно, объединить данные по коллекциям из разных регионов мира.

При проведении генотипирования оптимальное объединение SSR-маркеров в мультиплексных наборах позволило нам эффективно идентифицировать целевые фрагменты при выполнении фрагментного анализа; данные приведены в таблице 4. На рисунке 1 и 2 представлены в качестве примера аллельные профили образцов.

По результатам полученных данных SSR-генотипирования выполнен кластерный анализ и составлена дендрограмма (рис. 3).

Анализ полученной дендрограммы показал, что в выборке исследуемых образцов выделено 4 основных кластера. В первый кластер вошел контрольный сорт ‘Талгарская Красавица’ (рис. 4, I) и образец Нагима (рис. 4, II).

Сорт ‘Талгарская Красавица’ получен селекционером А. Н. Кацейко от свободного опыления бельгийского сорта ‘Лесная Красавица’ (‘Fondante des Bois’) (Katseyko, 1956). В коллекцию сорт поступил из Pûre Horticultural Research Centre (Pûre HRC) (Латвия, Пупе) в 1997 г. В Беларуси распространен также под названием «Алмаатинка».

Ранние исследования показали, что изучаемый сорт находится в одном кластере с американским сортом ‘Хони Дью’ (‘Honey Dew’) (Urbanovich et al., 2011), производным груши грушелистной с китайским ‘Пинго-ли’ (‘Pingo-li’), имеющим сложное гибридное происхождение между грушей яйцевидной и грушелистной. По морфоло-

Таблица 4. Микросателлитные ДНК-профили изучаемых сортов груши
Table 4. Microsatellite DNA profiles of the studied pear cultivars

Образец / Accession	Микросателлитные маркеры											
	CH01c06 A	CH02c02b B	CH03d12 E	SdSSR F	CH05c06 G	EMPc11 H	EMPc117 J	CH01d09 K	CH04e03 L	GD147 M	CH01f07a N	CH01d08 O
	Мультиплексные наборы											
	1		2		3			4		5		
Адамполь	152	133	115	-	87	148	86,111	133,140	182	122	184	-
Анджелейс	148,160	119	92,110	157	86,95	144,148	90,108	132,138	183	98,121	149,185	282
Бере Случкая	153	131	114	-	88	148	88,107	129,137	182	121	184	-
Груша Авдитовского	148	118,135	107	154	95	155	93,109	134	182	121	179	-
Груша Шумского	152	131	114	-	88	151	84,110	132,140	183	122	185	-
Деканка дю Комис	149,157	119	90,108	155	90,96	142,148	90,110	131,140	182	97,121	147,184	282
‘Любимица Клаппа’	148	118,134	108	154	95	152	90,108	134	182	123	180	-
Марианна	148	118,134	107	154	95	152	90,108	134	183	123	180	-
‘Маслянистая Летняя’	152	131	114	-	88	148	88,110	132,140	182	123	185	-
Нагима	148,156	109,127	123	175	92	154	96,107	125	182,186	122	180	279
‘Подарок Краснокутский’	157	114,132	95,113	158,161	86	112,117	-	-	-	127	184	285
Семеновская	157	117	110,128	155,182	95	143,153	-	-	-	-	-	-
‘Талгарская Красавица’	148,156	110,127	125	175	91	153	96,105	126	182,186	123	180	279
Эйсманты	148	117,135	107	154	95	152	90,108	134	182	121	179	-

Примечание: значение «-» – нет данных
Note: dash (-) means no data

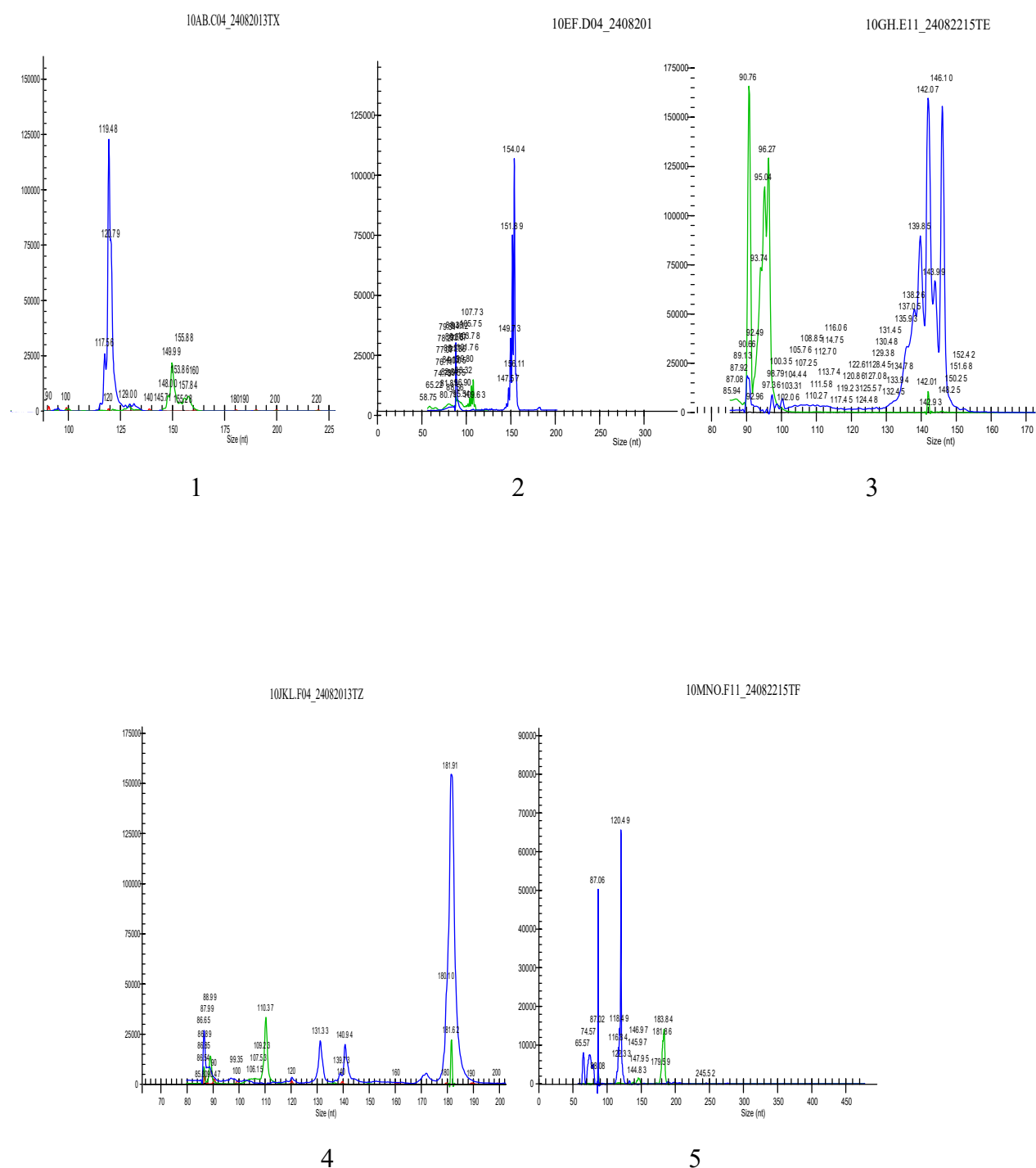


Рис. 1. Аллельный профиль сорта *Doyenne du Comice*
Fig. 1. Allele profile for the SSR marker set *Doyenne du Comice*

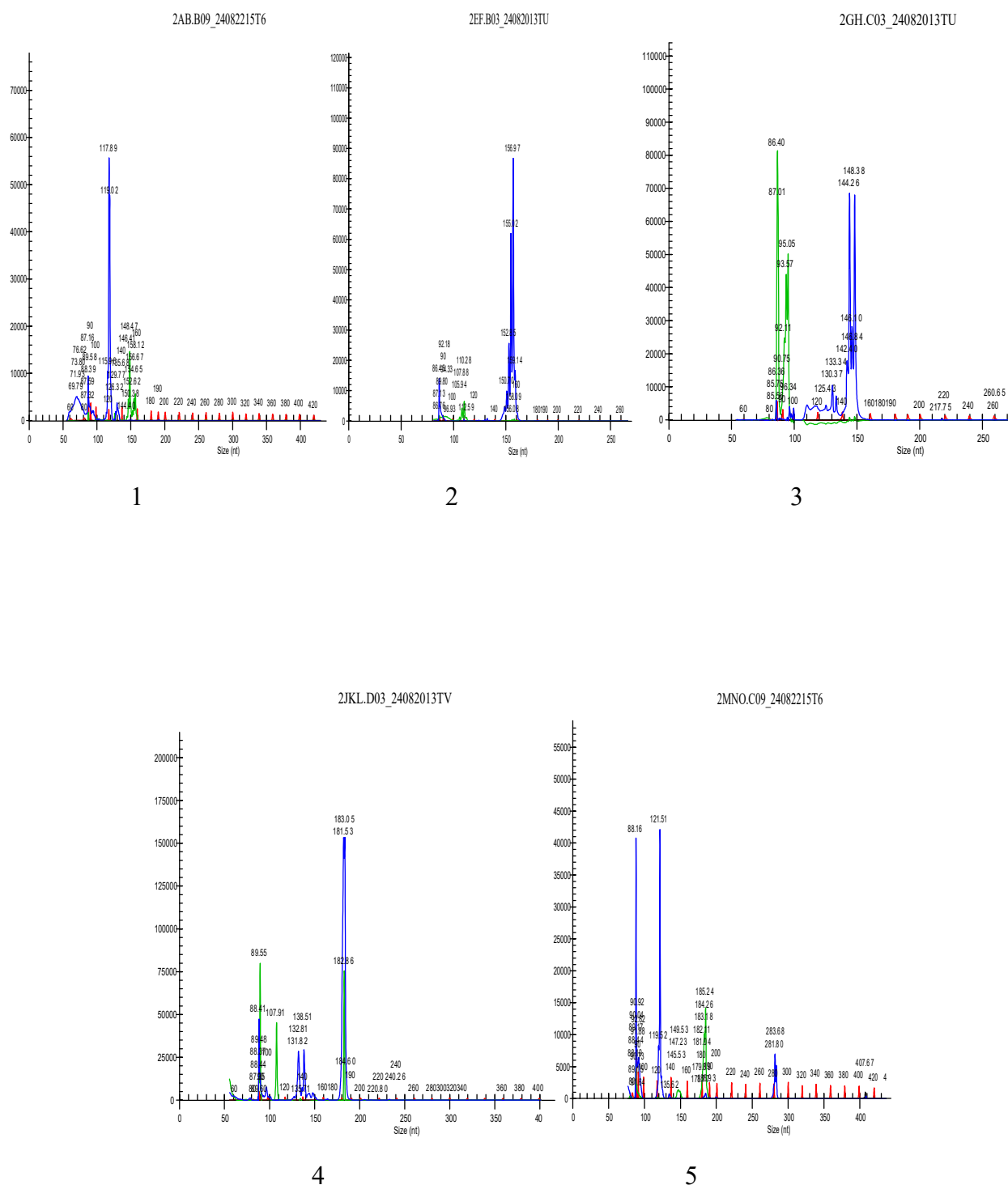


Рис. 2. Аллельный профиль образца *Angelys*
Fig. 2. Allele profile for the SSR marker set *Angelys*

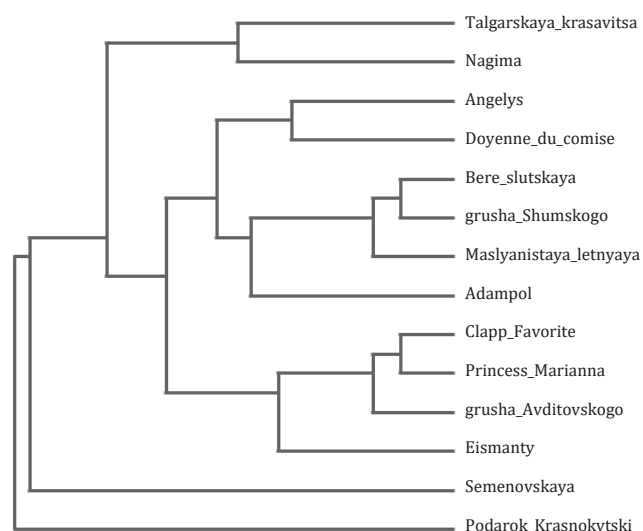


Рис. 3. Дендрограмма, показывающая генетическое родство между изученными образцами груши

Fig. 3. Dendrogram showing the genetic relationship among the studied pear accessions



I



II

Рис. 4. 'Талгарская красавица' (I) и Нагима (II) – 1-й кластер

Fig. 4. 'Talgarskaya Krasavitsa' (I), and Nagima (II): 1st cluster

гическим признакам листовой пластинки, характеристике плода (оппадающая чашечка, плотная хрустящая мякоть плода) и генетическому анализу было доказано, что сорт 'Талгарская Красавица' по своему происхождению принадлежит к груше грушелистной, или песчаной (*Pyrus pyrifolia* (Burm.) Nakai) (Martsynkevich et al., 2017; Yakimovich, 2019).

Образец под названием «Нагима» поступил в коллекцию в 2018 г. из Казахского научно-исследовательского института плодоводства и виноградарства. Информации о его происхождении нет. По результатам наших наблюдений по мере вступления дерева в плодоношение установлено, что морфологическое описание плодов данного образца соответствовало сорту 'Талгарская Красавица', но образец отличался более продолжительным периодом созревания (плоды сохраняли свои вкусовые качества до февраля), в то время как контрольный образец хранился до декабря, что обусловило необходимость более точной идентификации. Проведенный молекулярно-генетический анализ показал, что данные образцы груши имеют идентичные ДНК-профили по составу SSR-аллелей, то есть 'Талгарская Красавица' и Нагима из на-

шей коллекции – один и тот же сорт, либо Нагима является клоном 'Талгарской Красавицы' (см. табл. 4).

Второй кластер составили сорт 'Деканка дю Комис' (рис. 5, I) и образец Анджелейс (рис. 5, II).

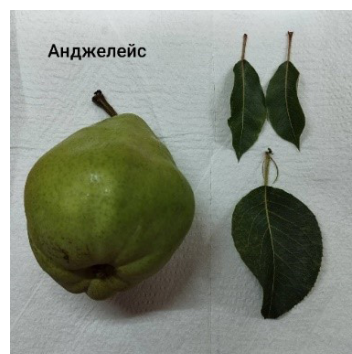
Сорт груши 'Деканка дю Комис' ('Doyenné du Comice', 'Деканка Общественная') получен в середине XIX века в г. Анже (Франция), в саду местного общества садоводов (Comice Horticole) из смешанного посева семян разных сортов. Сорт быстро распространился по всей Франции, завезен в Америку, позже появился в Англии, Германии и на Украине (Simirenko, 1972).

Образец, поступивший от любителя в коллекцию под названием «Анджелейс», не соответствовал литературному описанию оригинального сорта. По нашим наблюдениям, он обладал схожими морфологическими признаками с 'Деканкой дю Комис'. В результате молекулярно-генетического анализа установлено их полное генетическое сходство.

По данным дендрограммы (см. рис. 3), третий кластер составили сорт 'Маслянистая Летняя' (контрольный сорт) (рис. 6, I) и образцы Адампаль (рис. 6, II), Груша Шумского (рис. 6, III), Бере Слущкая (рис. 6, IV).



I



II

Рис. 5. 'Деканка дю Комис' (I) и Анджелейс (II) – 2-й кластер

Fig. 5. 'Doyenné du Comice' (I), and Angelys (II): 2nd cluster



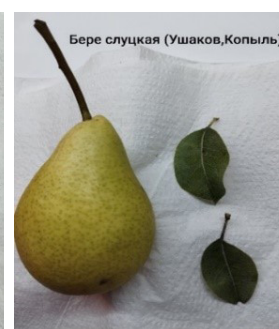
I



II



III



IV

Рис. 6. 'Маслянистая Летняя' (I), Адампаль (II), Груша Шумского (III) и Бере Слуцкая (IV) – 3-й кластер

Fig. 6. 'Vasarine Sviestine' (I), Adamopal (II), Grusha Shumskogo (III), and Bere Slutsкая (IV): 3rd cluster

'Маслянистая Летняя' ('Vasarine Sviestine', 'Летняя Маслянистая', 'Весарине Свиестине') – литовский сорт народной селекции, происхождение которого неизвестно. Сорт широко распространен в странах Балтии и Беларуси.

По данным таблицы 4, аллельный состав образцов третьего кластера идентичен. Это послужило нам основанием считать, что образцы Бере Слуцкая, Груша Шумского и Адампаль в действительности – сорт 'Маслянистая Летняя'. К тому же морфологическое описание, форма листовой пластинки, опушение с нижней стороны, форма плодов и вкус у данной группы образцов одинаковы.

Четвертый кластер включал контрольный сорт 'Любимица Клаппа' (рис. 7, I) и образцы, полученные от белорусских садоводов-любителей, поддерживаемые в коллекции под названиями «Марианна» (рис. 7, II), «Груша Авдитовского» (рис. 7, III) и «Эйсманти» (рис. 7, IV).

'Любимица Клаппа' ('Clapp Favorite', 'Clapp's Favorite', 'Favorytka') получен Тадеушем Клаппом (США) от свободного опыления бельгийского сорта 'Лесная Красавица' (syn. 1 'Fondante des Bois') в 1860 г. (Simirenko, 1972) или является гибридом между сортами 'Вильямс' ('Bartlett') и 'Лесная Красавица' (syn. 2 'Flemish Beauty') (Sammarco, 2009). Это один из наиболее распространенных летних сортов груши в Северо-Кавказском и Нижневолжском регионах РФ, а также на Украине, в Молдове, Латвии, Литве, Эстонии и Средней Азии.

Образцы Марианна, Груша Авдитовского и Эйсманти поступили в коллекцию от любителей. По нашим наблюдениям, данные образцы демонстрировали явные сходства с сортом 'Любимица Клаппа', а именно имели типичную толстую изогнутую плодоножку. Мы предположили, что так как 'Любимица Клаппа' – старый сорт и распространен повсеместно, он мог неоднократно попадать в коллекцию под разными названиями. Проведенный молекулярный анализ показал, что данные образцы имеют одинаковый ДНК-профиль и составляют один кластер, что и подтвердило наши предположения.

Сорт 'Подарок Краснодарский' (рис. 8, I) и образец Семеновская (рис. 8, II) выделились в отдельные ветви дендрита.

'Подарок Краснодарский' – контрольный сорт, получен на Краснодарской опытно-селекционной станции (пгт. Краснодар) А. И. Берендеем от сорта 'Деканка Краснодарская' свободным опылением в 1953 г.

Образец под названием «Семеновская», поступивший в коллекцию от любителя в 2014 г., по морфологическим признакам, внешнему виду, вкусу плодов, сроку хранения схож с сортом 'Подарок Краснодарский'. Но по результатам микросателлитного анализа выяснилось, что исследуемые сорта имели различные генетические профили (см. табл. 4), то есть образец Семеновская не является двойником контрольного сорта.

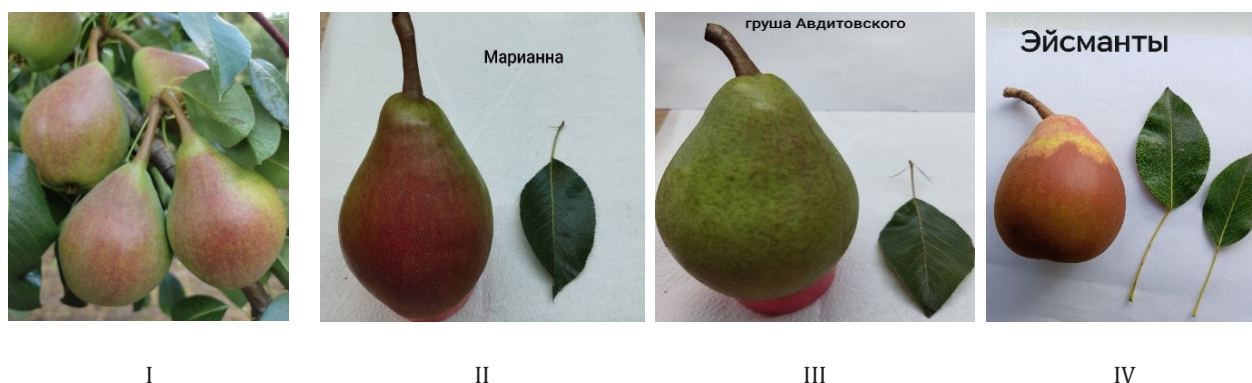


Рис. 7. 'Любимица Клаппа' (I), Марианна (II), Груша Авдитовского (III) и Эйсманти (IV) – 4-й кластер
Fig. 7. 'Clapp Favorite' (I), Marianna (II), Grusha Avditovskogo (III), and Eismanty (IV): 4th cluster

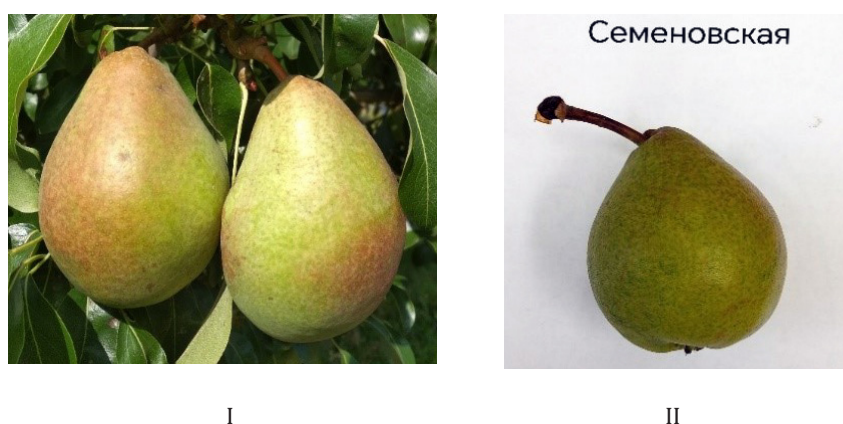


Рис. 8. 'Подарок Краснокутский' (I) и Семеновская (II) – 5-й и 6-й кластеры
Fig. 8. 'Podarok Krasnokutsky' (I), and Semenovskaya (II): 5th and 6th clusters

Заключение

Приоритетные маркеры EMPc117, EMPc11, CH04e03, CH01f07a, CH01d08, CH01d09, GD147, CH05c06 и CH03d12 при проведении молекулярно-генетического анализа показали высокую эффективность. Уровень аллельного полиморфизма (*He*) варьировал в пределах 0.52–0.89, в среднем это составило 0,77 единиц. Значение информативных аллелей – 5.44, общее число выявленных – 96, со средним значением на маркер – 8. Полученные в исследовании результаты согласуются (по общим маркерам ECPGR у изученных сортов) с данными анализа других авторов из Швеции, Германии, Англии, России, что может способствовать созданию общей базы данных по генетическим ресурсам.

Идентификация, основанная на анализе состава SSR-аллелей, позволила выявить дублирующие сорта в коллекции груши Института плодоводства Республики Беларусь, определив принадлежность ряда образцов, поступивших из других учреждений и собранных в результате экспедиционных обследований, к сортам 'Талгарская Красавица' (Нагима), 'Любимица Клаппа' (Марианна, Груша Авдитовского и Эйсманти), 'Деканка дю Комис' (Анджелейс) и 'Маслянистая летняя' (Бере Слущкая, Груша Шумского и Адамполь), а также установить уникальность сортов 'Подарок Краснокутский' и 'Семеновская'.

References / Литература

- Alonso Segura J.M., Espiau Ramírez M.T., Pina Sobrino A., Rubio-Cabetas M.J., Fernández i Martí Á. Genetic diversity of the Spanish Pear Germplasm Collection assessed by SSRs. *Acta Horticulture*. 2021;1303:37-44. DOI: 10.17660/ActaHortic.2021.1303.6
- Asanidze Z., Akhalkatsi M., Henk A.D., Richards C.M., Volk G.M. Genetic relationships between wild progenitor pear (*Pyrus* L.) species and local cultivars native to Georgia, South Caucasus. *Flora – Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 2014;209(9):504-512. DOI: 10.1016/j.flora.2014.06.013
- De Andres M.T., Cabezas J.A., Cervera M.T., Borrego J., Martínez-Zapater J.M., Jouve N. Molecular characterization of grapevine rootstocks maintained in germplasm collections. *American Journal of Enology and Viticulture*. 2007;58(1):75-86. DOI: 10.5344/ajev.2007.58.1.75
- Đurić G., Tomić L., Mićić N., Cvetković M., Radoš L., Pašalić B. Fruit genetic resources in Republika Srpska. *Acta Agriculturae Serbica*. 2009;14(28):31-40.
- Evans K.M., Fernández-Fernández F., Govan C. Harmonising fingerprinting protocols to allow comparisons between germplasm collections – *Pyrus*. *Acta Horticulturae*. 2009;814:103-106. DOI: 10.17660/ActaHortic.2009.814.10
- Ferradini N., Lancioni H., Torricelli R., Russi L., Dalla Ragione I., Cardinali I. et al. Characterization and phylogenetic analysis

- sis of ancient Italian landraces of pear. *Frontiers in Plant Science*. 2017;8:751. DOI: 10.3389/fpls.2017.00751
- Galinskaya T.V., Schepetov D.M., Lysenkov S.N. Prejudices against microsatellite studies and how to resist them. *Russian Journal of Genetics*. 2019;55(6):657-671. DOI: 10.1134/S1022795419060048
- Gasi F., Kurtovic M., Kalamujic B., Pojskic N., Grahic J., Kaiser C. et al. Assessment of European pear (*Pyrus communis* L.) genetic resources in Bosnia and Herzegovina using microsatellite markers. *Scientia Horticulture*. 2013;157:74-83. DOI: 10.1016/j.scienta.2013.04.017
- Katseyko A.N. The results of the work on breeding new cultivars of apple, pear and strawberry in the Alma-Ata fruit-growing zone (Itogi rabot po vyvedeniyu novykh sortov yabloni, grushi i zemlyaniki v Almaatinskoy zone plodovodstva). *Trudy Instituta zemledeliya imeni V.R. Vilyamsa = Proceedings of the V.R. Williams Institute of Crop Farming*. 1956;5:6-56. [in Russian] [Кацейко А.Н. Итоги работ по выведению новых сортов яблони, груши и земляники в Алма-Атинской зоне плодводства. *Труды Института земледелия имени В.Р. Вильямса*. 1956;5:6-56].
- Kazlouskaya Z.A., Fralova L.V., Taranau A.A., Yakimovich V.A., Palubiatka I.G. Mobilization of fruit, small fruit and nut crop genetic resources in Belarus. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2021;182(3):20-29. [in Russian] [Козловская З.А., Фролова Л.В., Таранов А.А., Якимович О.А., Полубятко И.Г. Мобилизация генетических ресурсов плодовых, ягодных и орехоплодных культур в Беларуси. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2021;182(3):20-29]. DOI: 10.30901/2227-8834-2021-3-20-29
- Kazlouskaya Z.A., Yakimovich V.A. Main results of the introduction of pome fruit cultivars in Belarus. In: *International Conference "125 Years of Applied Botany in Russia": Book of Abstracts*. St. Petersburg: VIR; 2019. p.146. [in Russian] [Козловская З.А., Якимович О.А. Основные результаты интродукции сортов семечковых плодовых культур в Беларуси. В кн.: *Международная конференция «125 лет прикладной ботаники в России»: сборник тезисов*. Санкт-Петербург: ВИР; 2019. С.146]. DOI: 10.30901/978-5-907145-39-9
- Kocsisné G.M., Bolla D., Anhalt-Brüderl U.C.M., Forneck A., Taller J., Kocsis L. Genetic diversity and similarity of pear (*Pyrus communis* L.) cultivars in Central Europe revealed by SSR markers. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2020;67(3):1755-1763. DOI: 10.1007/s10722-020-00937-0
- Martsynkevich T.M., Yakimovich V.A., Kazlouskaya Z.A. Evaluation of the hybrids progeny of variety Talgarskaya krasavitsa to pear scab resistance and the identification gene fragment to scab resistance. *Fruit Growing*. 2017:41-47. [in Russian] [Марцинкевич Т.Н., Якимович О.А., Козловская З.А. Оценка гибридного потомства сорта Талгарская красавица на устойчивость к парше груши и выявление фрагмента гена устойчивости. *Плодоводство*. 2017:41-47].
- Nadeem M.A., Nawaz M.A., Shahid M.Q., Doğan Y., Comertpay G., Yildiz M. et al. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*. 2018;32(2):261-285. DOI: 10.1080/13102818.2017.1400401
- Nei M., Roychoudhury A.K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*. 1974;76(2):379-390. DOI: 10.1093/genetics/76.2.379
- Nishio S., Takada N., Saito T., Yamamoto T., Iketani H. Estimation of loss of genetic diversity in modern Japanese cultivars by comparison of diverse genetic resources in Asian pear (*Pyrus* spp.). *BMC Genetics*. 2016;17(1):81. DOI: 10.1186/s12863-016-0380-7
- Nybom H., Weising K. DNA-based identification of clonally propagated cultivars. In: J. Janick (ed.). *Plant Breeding Reviews*. Vol. 34. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons; 2011. p.221-295. DOI: 10.1002/9780470880579.ch6
- Ouni R., Zborowska A., Sehic J., Choulak S., Iñaki Hormaza J., Garkava-Gustavsson L. et al. Genetic diversity and structure of Tunisian local pear germplasm as revealed by SSR markers. *Horticultural Plant Journal*. 2020;6(2):61-70. DOI: 10.1016/j.hpj.2020.03.003
- Reim S., Lochschmidt F., Proft A., Wolf H., Wolf H. Species delimitation, genetic diversity and structure of the European indigenous wild pear (*Pyrus pyraeaster*) in Saxony, Germany. *Genetic Resources and Crop Evolution*. 2016;64(5):1075-1085. DOI: 10.1007/s10722-016-0426-8
- Sammarco A.M. He who hybridized the Clapp's Favorite pear. *The Forest Hills Educational Trust* (blog); 2009. Available from: <http://foresthillstrust.blogspot.com/2009/12/he-who-hybridized-clapps-favorite-pear.html> [accessed Nov. 20, 2024].
- Sehic J., Garkava-Gustavsson L., Fernández-Fernández F., Nybom H. Genetic diversity in a collection of European pear (*Pyrus communis*) cultivars determined with SSR markers chosen by ECPGR. *Scientia Horticulture*. 2012;145:39-45. DOI: 10.1016/j.scienta.2012.07.023
- Simirenko L.P. Pomology. Vol. 2. Pear (Pomologiya. T. 2. Grusha). Kiev: Urozhay; 1972. [in Russian] [Симиренко Л.П. Помология. Т. 2. Груша. Киев: Урожай; 1972].
- Taheri S., Lee Abdullah T., Yusop M.R., Hanafi M.M., Sahebi M., Azizi P. et al. Mining and development of novel SSR markers using next generation sequencing (NGS) data in plants. *Molecules*. 2018;23(2):399. DOI: 10.3390/molecules23020399
- Urbanovich O.Yu., Kazlouskaya Z.A., Yakimovich V.A., Kartel N.A. Polymorphism of SSR alleles in pear cultivars grown in Belarus. *Russian Journal of Genetics*. 2011;47(3):305-313. DOI: 10.1134/S1022795411030173
- Wolko Ł., Bocianowski J., Andkowiak W., Słomski R. Genetic diversity and population structure of wild pear (*Pyrus pyraeaster* (L.) Burgsd.) in Poland. *Open Life Sciences*. 2014;10(1):19-29. DOI: 10.1515/biol-2015-0003
- Xuan H., Mayr U., Büchele M. Fingerprinting practices applied to the KOB heritage apple cultivars using SSRs as proposed by the ECPGR-FN. *Acta Horticulture*. 2010;859:183-190. DOI: 10.17660/ActaHortic.2010.859.22
- Yakimovich O.A. 'Talgarskaya krasavitsa' pear variety in the conditions of Belarus. *Fruit Growing*. 2019;31(1):49-54. [in Russian] [Якимович О.А. Сорт груши Талгарская красавица в условиях Беларуси. *Плодоводство*. 2019;31(1):49-54].
- Yamamoto T., Kimura T., Sawamura Y., Manabe T., Koto-buki K., Hayashi T. et al. Simple sequence repeats for genetic analysis of pear. *Euphytica*. 2002;124(1):129-137. DOI: 10.1023/A:1015677505602
- Zeljковић M.K., Bosančić B., Đurić G., Flachowsky H., Garkava-Gustavsson L. Genetic diversity of pear germplasm in Bosnia and Herzegovina, as revealed by SSR markers. *Zemdirbyste-Agriculture*. 2021;108(1):71-78. DOI: 10.13080/z-a.2021.108.010
- Zeljковић M.K., Ivanovska S., Đurić G. Phenological characteristics and global tree architecture of the pear germplasm from Bosnia and Herzegovina in *ex situ* conditions. *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences*. 2019;73(1):83-91. DOI: 10.55302/JAFES19731083kz

Информация об авторах

Татьяна Николаевна Марцинкевич, старший научный сотрудник, Институт плодводства, 223013 Беларусь, Самохваловичи, ул. Ковалева, 2, 87martany@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0000-5068-1121>

Ольга Александровна Якимович, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, ведущий научный сотрудник, Институт плодводства, 223013 Беларусь, Самохваловичи, ул. Ковалева, 2, pear.belsad@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4408-2805>

Юлия Георгиевна Кондратенко, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, ведущий научный сотрудник, Институт плодводства, 223013 Беларусь, Самохваловичи, ул. Ковалева, 2, apple.julia.kon@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0005-0055-5254>

Наталья Валерьевна Кухарчик, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий отделом, Институт плодводства, 223013 Беларусь, Самохваловичи, ул. Ковалева, 2, nkykhartchyk@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-6658-9309>

Александр Николаевич Рымко, кандидат биологических наук, директор, Общество с ограниченной ответственностью «АртБиоТех», 220084 Беларусь, Минск, ул. Купревича, 1/3, каб. 337, info@qpcr.by, <https://orcid.org/0009-0005-7872-6463>

Information about the authors

Tatsiana M. Martsynkevich, Senior Researcher, Institute for Fruit Growing, 2 Kovaleva St., Samokhvalovich 223013, Belarus, 87martany@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0000-5068-1121>

Volha A. Yakimovich, Cand. Sci. (Agriculture), Associate Professor, Leading Researcher, Institute for Fruit Growing, 2 Kovaleva St., Samokhvalovich 223013, Belarus, pear.belsad@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-4408-2805>

Julia G. Kandratsenak, Cand. Sci. (Agriculture), Associate Professor, Leading Researcher, Institute for Fruit Growing, 2 Kovaleva St., Samokhvalovich 223013, Belarus, apple.julia.kon@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0005-0055-5254>

Natallia V. Kukharchyk, Dr. Sci. (Agriculture), Professor, Head of a Department, Institute for Fruit Growing, 2 Kovaleva St., Samokhvalovich 223013, Belarus, nkykhartchyk@gmail.com, <https://orcid.org/0009-0009-6658-9309>

Aliaksandr M. Rymko, Cand. Sci. (Biology), Director, ArtBioTech Limited Liability Company, 1/3, office 337, Kuprevicha St., Minsk 220084, Belarus, info@qpcr.by, <https://orcid.org/0009-0005-7872-6463>

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests: the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 23.01.2025; одобрена после рецензирования 27.05.2025; принята к публикации 21.07.2025.
The article was submitted on 23.01.2025; approved after reviewing on 27.05.2025; accepted for publication on 21.07.2025.