

УДК 634.11:577.21

UDC 634.11:577.21

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ SSR МАРКЕРОВ В
ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ РОДА
*PRUNUS***

**USING OF SSR MARKERS IN GENETIC
STUDIES OF *PRUNUS* GENUS**

Степанов Илья Владимирович
аспирант, м.н.с.

Stepanov Ilya Vladimirovich
postgraduate student, staff scientist

Супрун Иван Иванович
к.б.н., зав. лабораторией
*Северо-Кавказский зональный научно-
исследовательский институт садоводства и
виноградарства, Россия, г. Краснодар, ул. 40 лет
Победы, 39, supruni@mail.ru*

Suprun Ivan Ivanovich
Cand.Biol.Sci., head of the laboratory
*North-Caucasian Zonal Research Institute of
Horticulture and Viticulture, Russia, Krasnodar, 40 let
Pobedy, 39 supruni@mail.ru*

В настоящей статье рассматривается актуальная проблема применения SSR-маркеров в изучении рода *Prunus*. Освещены исследования по наиболее важным культурам рода. Собрана и проанализирована современная литература по данной тематике. Приведены данные начального этапа исследований по изучению генетического полиморфизма рода *Prunus* на Северном Кавказе с применением SSR-маркеров

This article discusses the actual problem of using SSR-markers in studies of the genus *Prunus*. We have examined the works on the most important cultures of genus, collected and analyzed contemporary literature of the subject. Data of the initial stage of *Prunus* SSR-based genetic diversity study in the North-Caucasian region has been described in the presented publication

Ключевые слова: ПОД *PRUNUS*, SSR, ДНК -
МАРКЕРНЫЙ АНАЛИЗ, АЛЛЕЛЬНЫЙ
ПОЛИМОРФИЗМ

Keywords: GENUS *PRUNUS*, SSR, DNA-
MARKERS, ALLELIC POLYMORPHISM

Род *Prunus* это широко распространенный в умеренной и субтропической зоне таксон древесных растений, относящийся к семейству *Rosaceae*. Для рода *Prunus* характерно богатое видовое разнообразие. Многие виды этого рода имеют важное экономическое значение, так как являются ценными плодовыми культурами: персик, слива, абрикос, вишня, черешня, миндаль, а также используются для декоративных целей.

Высокий уровень экономического значения плодовых культур, принадлежащих к данному роду, способствовал развитию методов молекулярно - генетического анализа в изучении генофонда *Prunus*.

Методы, основанные на изоферментах, не позволяют проводить достоверную идентификацию генотипов из-за относительно низкого полиморфизма данного типа молекулярных маркеров [1,2]. В связи с этим,

широкое применение нашли методы, основанные на ДНК - маркерном анализе.

Мультилокусные RAPD маркеры использовались в исследованиях на ранних этапах [3], но проблемы с воспроизводимостью результатов делают их малопригодными для работы. Другие, более надежные типы ДНК-маркерных систем, такие как ПДРФ (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) и AFLP (amplified fragment length polymorphism) более сложны в методическом отношении.

Один из наиболее информативных типов ДНК-маркеров – маркеры, основанные на полиморфизме микросателлитных последовательностей генома (SSR-simple sequence repeat). Это простые последовательности, которые могут состоять из 4, 3, 2 и даже одного нуклеотида. Источник их полиморфизма - сайт - специфическое варьирование длины повтора, что в свою очередь обусловлено различием в числе единиц повтора.

Распространенность микросателлитных последовательностей в эукариотическом геноме, их высокий уровень полиморфизма, кодоминантное наследование и простота обнаружения с помощью ПЦР и электрофореза делает их высококачественными маркерами, удобными для генетического анализа [4]. Этот факт послужил основанием для активного применения SSR маркеров в генетических исследованиях рода *Prunus*. В настоящее время количество микросателлитных локусов обнаруженных у представителей рода *Prunus* увеличивается с каждым годом.

Первой косточковой культурой, у которой наиболее детально были изучены микросателлитные ДНК-маркеры (SSR - simple sequence repeats), является персик. Выбор данного вида как объекта исследований был не случайным: персик – одна из наиболее важных косточковых культур. Одно из первых исследований было проведено на основе двух геномных библиотек, богатых AC/GT и AG/CT повторами на сорте «Redheaven». В ходе работы с двумя геномными библиотеками были разработаны 17

микросателлитных маркеров, полиморфизм которых был апробирован на генотипах персика и нектарина. Также была проанализирована возможность перенесения данных маркеров на другие культуры рода *Prunus*. Большинство из них давали четкий ПЦР продукт у таких видов как слива домашняя, слива японская, абрикос, миндаль, черешня и вишня, и несколько праймеров дали продукты при амплификации у яблони [5]. Дополнительно к этому набору SSR маркеров на сорте «Redheaven» были выделены и секвенированы 26 микросателлитных последовательностей из двух богатых AC/GT и AG/CT повторами библиотек [6]. Более обширная коллекция SSR маркеров была создана на базе двух геномных библиотек (богатых AG/CT и CT повторами) разработанных на сорте персика «Merrill O'Henry». Микросателлиты, обнаруженные в геномной библиотеке богатой AG/CT повторами, показали высокий уровень полиморфизма у сортов персика и нектарина. В свою очередь на основе библиотеки богатой CT повторами был разработан набор SSR для черешни и персика. При апробации все праймеры давали ПЦР-продукт у персика и 80,5% праймеров у черешни [7].

Разработанные на персике и черешне праймеры были использованы для построения генетической карты *Prunus*. Обнаруженные SSR были равномерно распределены во всех восьми группах сцепления на данной карте, что обеспечило широкий охват генома. Из набора были выделены двадцать четыре монолокусных SSR, высоко полиморфных у персика и равномерно распределенных по геному [8].

Основываясь на ранее созданных SSR маркерах, были проведены широкомасштабные исследования генетического разнообразия персика. Коллекция, включающая 212 сортов персика и нектарина и охватывающая широкий спектр внутривидовой изменчивости, была изучена с помощью 16 отобранных микросателлитных маркеров. При этом 87% сортов проявили уникальные аллельные наборы по SSR-маркерам, остальные

были распределены на семь кластеров [9]. Также были проведены масштабные исследования генетического разнообразия и популяционной структуры коммерческих сортов персика Северной Америки и Европы. В ходе работы было генотипировано 224 сорта с использованием 50 SSR маркеров. Основываясь на данных маркерного анализа, сорта были разделены на три группы, различающиеся по характеристикам плодов. Было выявлено, что генплазма стародавних сортов селекции США широко представлена в современной генплазме данной культуры [10].

Особенную ценность имеют данные по генетическому полиморфизму SSR маркеров в китайской генплазме, так как предположительным центром происхождения данной культуры является северный Китай. Была проведена работа по оценке генетического разнообразия и эколого - географического родства на китайских сортах местной селекции, дополнительно в работу были включены японские, североамериканские и северокорейские сорта персика и нектарина. Таким образом, в общей сложности было изучено 96 генотипов. Молекулярно-генетический анализ проводился с применением 33 SSRs, отобранных из ранее опубликованных маркеров. Выявленный уровень полиморфизма был выше имеющихся данных полученных в ранее проведенных исследованиях [11].

Ряд разработанных на персике SSR маркеров был успешно применен на черешне. Однако для более полного изучения данной культуры были созданы микросателлитные маркеры на основе геномных библиотек. Так, 15 SSR маркеров было разработано на основе данных о последовательностях клонированной микросателлитной ДНК из библиотеки, в которой использовалась геномная ДНК, выделенная из сорта черешни Валерий Чкалов. В дальнейшем эти маркеры были использованы для сортовой идентификации черешни и возможной амплификации у других видов рода *Prunus*. У всех 15 сортов черешни были получены

уникальные ДНК-фингерпринты по созданным микросателлитным маркерам. Амплификация с использованием разработанных на черешне праймеров у других видов (*P. salicina*, *P. armeniaca* и *P. persica*) в 80% случаев прошла успешно. В результате исследования было показано, что разработанные маркеры могут быть успешно применены на черешне и других видах в рамках рода *Prunus* для построения карт сцепления, сортовой идентификации и изучения таксономического родства [12]. На протяжении последних 10 лет SSR маркеры являются основным инструментом в изучении генетического разнообразия черешни. С помощью 10 SSR маркеров был выполнен анализ генплазмы тетраплоидной черешни из коллекции Службы Сельскохозяйственных Исследований США (Agricultural Research Service). Данные SSRs показали высокий уровень полиморфизма [13]. SSR маркеры разработанные на персике были успешно применены на 76 генотипах черешни с опытных садов селекционной станции Campus de Aula Dei в Сарагосе, Испания [14]. Интерес для мировой селекции представляет изучение турецких сортов, так как область между Каспийским и Черным морями является территорией возможного происхождения культуры. Первое исследование на турецкой генплазме проводилось с использованием 13 SSR праймеров, разработанных на черешне, вишне и персике. Было проанализировано 10 сортов черешни, 7 из которых местные сорта, широко распространенные в Турции [15]. В последующем было проведено более обширное изучение Турецкой генплазмы черешни на 78 местных и интродуцированных образцах. В ходе исследования было показано, что местные генотипы обладают большим генетическим разнообразием, чем интродуцированные. Этот факт подтверждает важность изучения турецкой генплазмы черешни для мировой селекции этой культуры [16]. Для обогащения мирового генофонда черешни также важно изучение диких форм. Дикая черешня в изобилии произрастает на севере Турции. Было проведено исследование 18

генотипов дикой черешни, произрастающих в долине Кору (Coruh) на севере Турции с использованием 10 SSR маркеров. В ходе работы выявили высокий уровень генетического разнообразия изучаемых образцов, что делает их полезными для селекционных программ, нацеленных на скрещивание культурных сортов с дикими формами черешни [17].

Культурой, близкой к персику по степени генетического родства, является миндаль. Наиболее вероятным центром происхождения данной культуры является центральная Азия. Для миндаля характерен высокий уровень полиморфизма, предположительно вызванный наличием механизма самонесовместимости отсутствующим у персика. Высокую степень генетического разнообразия миндаля подтверждают работы, проведенные с использованием микросателлитных маркеров. Первое исследование полиморфизма SSR маркеров у миндаля было проведено на калифорнийской генплазме, с использованием праймеров, разработанных на черешне и персике. В работу были включены наиболее значимые калифорнийские сорта. Результаты показали высокий уровень гомологии между микросателлитными локусами персика и миндаля [18]. Также была проведена работа по изучению генетического разнообразия миндаля на сортах китайской и мировой селекции. По данным, полученным в ходе исследования сорта были разделены на группы, согласующиеся с географией их происхождения. В работе использовались геномные SSR маркеры, ранее разработанные на персике, и EST – SSR полученные из миндаля и персика [19]. Проведенные исследования на китайской и калифорнийской генплазме ограничились узким набором сортов не сопоставимым с мировой коллекцией миндаля. Однако эти работы открыли широкий фронт для дальнейшего изучения генетического разнообразия данной культуры. Так в 2009 году была проделана работа по анализу испанской коллекции миндаля на 63 сортах с использованием 19 SSR маркеров. В результате работы SSR маркеры показали свою

эффективность в построении генеалогических древ, определении степени генетического родства и сортовой принадлежности у этой культуры [20].

Одной из экономически важных косточковых культур является абрикос. Известен целый ряд работ, связанных с изучением генетического разнообразия и анализом филогенетики абрикоса на основе микросателлитных повторов, разработанных на персике [21-22]. Маркеры, синтезированные на персике, показали свою эффективность в исследованиях на абрикосе. Параллельно исследованиям по воспроизводимости SSR маркеров других видов на данную культуру, проводились работы по разработке микросателлитов на абрикосе [23-25]. SSR маркеры, созданные на основе геномной библиотеки из молодых листьев сорта абрикоса «Ungarische Beste», показали более высокий уровень информативности, чем изоферментные и ПДРФ маркеры, применявшиеся ранее [23]. Была доказана высокая трансферабельность SSR, выделенных из EST листьев абрикоса [26]. Так же SSR маркеры были разработаны на основе богатых микросателлитными последовательностями библиотек кДНК из листьев сорта «Stark Early» и плодов сорта «Bergeron» на различных стадиях созревания [24]. Исходя из эффективности использования SSR маркеров в изучении генетического разнообразия были проведены работы на генплазме абрикоса из различных регионов мира. Сорок сортов абрикоса из двух коллекций St. Istvan University (Будапешт, Венгрия) и Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) (Валенсия, Испания) были проанализированы с помощью 11 полиморфных SSR маркеров, разработанных на персике. На основании полученных данных был проведен кластерный анализ, в ходе которого сорта сгруппировались согласно их географическому происхождению и родословной [22]. При изучении 44 генотипов абрикоса из различных европейских коллекций с применением SSR праймеров созданных на данной культуре, был проведен кластерный анализ, который выявил две

группы генотипов: европейского происхождения и центрально азиатского [25]. Высокий уровень генетического разнообразия по SSR маркерам был обнаружен при исследовании, проведенном на 40 европейских и североамериканских сортах абрикоса [27]. Однако наибольшим генетическим разнообразием сортов абрикоса обладают территории первичного возникновения культуры. Это подтверждают исследования на турецкой [28] генплазме. Значительный вклад в оценку мирового генофонда абрикоса внесло исследование сортов распространенных на Севере Африки. Было проанализировано 183 образца абрикоса из Алжира, Марокко и Туниса, при помощи 24 микросателлитных маркеров, с целью изучения генетического разнообразия и родства двух групп абрикоса, распространенных в данном регионе: размножающихся клонально (с помощью прививок) и сеянцами. В общей сложности, у изучаемых образцов выявили 191 аллель. В ходе работы подтвердилось родство двух групп абрикоса, а так же методом кластерного анализа удалось разделить образцы по географическому признаку [29].

Первая работа, посвященная разработке SSR маркеров для сливы, одной из наиболее значимых косточковых культур, была проведена в 2004 году на сортах «Сасанска најбоља», «Сасанска гана» и «Сасанска лепотика» [30]. Однако в ряде последующих исследований сливы домашней с применением SSR маркеров, успешно использовались маркеры, разработанные на других культурах [31]. Одно из наиболее обширных исследований данной культуры с использованием SSR-маркеров было посвящено изучению генетического разнообразия и взаимосвязи генетической структуры сортов с фенотипическими признаками у трех видов из Французской национальной коллекции сливы (*P. domestica* L., *P. cerasifera* Ehrh. и *P. spinosa* L.). Совместно с SSR маркерами ядерного генома в работе использовались SSR маркеры хлоропластной (хп) ДНК. Полученные данные подтвердили гибридное происхождение *P. domestica*

от *P. cerasifera* и *P. spinosa*. SSR маркеры показали более высокий уровень полиморфизма, чем маркеры по хпДНК [32].

Одним из важных направлений использования микросателлитных маркеров является генотипирование и идентификация подвоев. SSR маркеры были успешно использованы для ДНК - фингепринтинга подвоев персика и черешни, а также при изучении генетического разнообразия исходных форм в селекции подвоев данных культур [33].

Очевидно, что микросателлитные маркеры нашли широкое применение в генетических исследованиях рода *Prunus*. Они эффективны при ДНК-паспортизации генплазмы, определении генетического разнообразия, выявлении родительских форм, а также в сортовой идентификации и построении генетических карт видов, принадлежащих к данному роду. Все это подтверждает высокую перспективность использования данного типа ДНК – маркеров в решении различных задач в генетике и селекции плодовых культур рода *Prunus*.

С учетом высокой эффективности SSR ДНК-маркеров в изучении генетического разнообразия и оценке филогенетических взаимосвязей на уровне вид/подвид/род, в СКЗНИИСиВ начаты исследования по изучению генетического полиморфизма автохтонной и интродуцированной на Северном Кавказе генплазмы рода *Prunus*, а также других плодовых культур, принадлежащих к родам *Malus* и *Pyrus*.

Исследования направлены на изучение филогенетических взаимосвязей в пределах рода *Prunus*, а также *Malus* и *Pyrus*, и создание системы молекулярно-генетической паспортизации коллекций генетических ресурсов данных родов. В настоящее время выполняется изучение полиморфизм микросателлитных локусов, у представителей автохтонной и интродуцированной генплазмы как культурных форм, так и дикорастущих видов в коллекциях генетических ресурсов Юга России.

В пределах рода *Prunus* проводится изучение микросателлитного полиморфизма у следующих видов: персик (*Prunus persica*), слива домашняя (*Prunus domestica*), алыча (*Prunus cerasifera*), вишня (*Prunus cerasus*), черешня (*Prunus avium* L.), абрикос (*Prunus armeniaca*). В качестве объектов взяты как отечественные сорта, созданные в результате селекционной работы в южном регионе РФ, так и сорта из других регионов, а также сорта зарубежной селекции и автохтонные сорта Северного Кавказа, созданные в результате народной селекции за длительный период возделывания данных культур.

На настоящий момент, в пределах рода *Prunus* выполнен SSR-анализ порядка 40 генотипов по пяти микросателлитным локусам: BPPCT 002, Ps12a02a, CPPCT 022, UDP98-407, UD98-410. Следует отметить, что в дальнейшем, в рамках исследований планируется увеличить количество используемых SSR-маркеров до 30-40, с учетом их равномерного распределения по хромосомам. Это позволит максимально достоверно оценить генетический полиморфизм изучаемых объектов.

Выполнение такого рода исследований даст возможность не только существенно дополнить научную информацию о филогенетических взаимосвязях внутри изучаемых таксономических групп, а также оценить генетические дистанции между различными группами сортов, но и получить исходные данные для создания базы данных ДНК-паспортов на основе результатов молекулярно-генетического анализа.

Работа выполняется при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 13-04-02089_А)

Литература

- 1 Arulsekar, S. Parfitt D.E., Beres W., [et al.] Genetics of malate dehydrogenase isozymes in the peach / S. Arulsekar, D.E. Parfitt, W. Beres [et al.] // *J. Heredity* – 1986 – Vol. 77 – P.49-51.
- 2 Messegueur, R. Identification of peach cultivars with pollen isozymes / R. Messegueur, P. Arua, M. Carrera // *Sci. Hort.* – 1987 – Vol.31 – P.107-117.
- 3 Warburton, M. L. Genetic diversity in peach (*Prunus persica* L. Batch) revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and compared with inbreeding coefficients / M. L. Warburton, F. A. Bliss // *J. Am. Soc. Hort. Sci.* – 1996 – Vol.121 – P.1012-1019.
- 4 Morgante, M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics / M. Morgante, A. M. Olivieri // *Plant J.* – 1993 – Vol.3 – P.175-182.
- 5 Cipriani, G. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L) Batsch]: isolation characterisation and cross-species amplification in *Prunus* / G. Cipriani, G. Lot, W.G. Huang [et al.] // *Theor Appl Genet.* – 1999 – Vol. 99 – P.65-72.
- 6 Testolin, R. Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batsch) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars / R. Testolin, T. Marrazzo, G. Cipriani [et al.] // *Genome* – 2000 – Vol. 43 – P.512-520.
- 7 Dirlewanger, E. 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. Dirlewanger, P. Cosson, M. Tavaud [et al.] // *Theor Appl Genet* – 2002 – Vol.105. – P.127-138.
- 8 Aranzana, MJ. Microsatellite variability in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: cultivar identification marker mutation pedigree inferences and population structure / MJ. Aranzana, J. Carbó, P. Arús // *Theor Appl Genet* – 2003 – Vol.106. – P.1341-1352.
- 9 Aranzana, MJ. Development and variation analysis of microsatellite markers in peach / MJ. Aranzana, J. Garcia-Mas, J. Carbo [et al.] // *Plant Breeding* – 2002 – Vol.121– P.87–92.
- 10 Aranzana, M.J. Genetic variation, population structure and linkage disequilibrium in peach commercial varieties / M.J. Aranzana, A. El. Kadri, W. Howad [et al.] // *BMC Genetics* – 2010 – P.11:69.
- 11 Yoon, J.H. Genetic diversity and ecogeographical phylogenetic relationships among peach and nectarine cultivars based on simple sequence repeat (SSR) markers / J.H. Yoon, D.C. Liu DC, W.S. Song [et al.] // *Amer Soc Hort Sci* – 2006 – Vol.131 – P.513-521.
- 12 Struss, D. Analysis of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using SSR and AFLP markers / D. Struss, R. Ahmad, S.M. Southwick [et al.] // *J Am Soc Hortic Sci* – 2003 – Vol.128 – P.904-909.
- 13 Cantini, C. DNA Fingerprinting of Tetraploid Cherry Germplasm Using Simple Sequence Repeats / C. Cantini, A. F. Iezzoni, W. F. Lamboy [et al.] // *J Am Soc Hortic Sci* – 2001 – Vol.126(2) – P.205–209.
- 14 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.
- 15 Kacar, A.Y. Sweet cherry cultivar identification by using SSR markers / A.Y. Kacar, A. Iezzoni, S. Cetiner // *J. Biol. Sci.* – 2005 – Vol.5 – P.616-619.
- 16 Gulen, H. Assessment of genetic relationships among 29 introduced and 49 local sweet cherry accessions in Turkey using AFLP and SSR markers / H. Gulen, A. Ipek, S. Ergin [et al.] // *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* – 2010 – Vol.85 – P.427-431.

17 Ercisli, S. Genetic diversity in wild sweet cherries (*Prunus avium*) in Turkey revealed by SSR markers / S. Ercisli, G. Agar, N. Yildirim [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2011 – Vol.10(2) – P.1211-1219.

18 Martinez-Gomez, P. An extended interspecific gene pool available to peach and almond breeding characterized using simple sequence repeat (SSR) markers / P. Martinez-Gomez, S. Arulsekhar, D. Potter [et al.] // *Euphytica* – 2003. – Vol.131 – P.313–322.

19 Xie, H. SSR allelic variation in almond (*Prunus dulcis* Mill.) / H. Xie, Y. Sui, F.Q. Chang [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2006 – Vol.112 – P.366-372.

20 Martı, A.F. Company Genetic Diversity in Spanish and Foreign Almond Germplasm Assessed by Molecular Characterization with Simple Sequence Repeats / A. F. Martı, J. M. Alonso, M. T. Espiau [et al.] // *J Am Soc Hortic Sci* - 2009. - Vol.134(5) – P.535-542.

21 Hormaza, J.I. Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats / J.I. Hormaza // *Theor. Appl. Genet.* – 2002. – Vol.104 – P.321-328.

22 Romero, C. Genetic diversity of different apricot geographical groups determined by SSR markers / C. Romero, A. Pedryc, V. Munoz [et al.] // *Genome* – 2003 – Vol.46 – P.244–252.

23 Lopes, M.S. Identification of microsatellite loci in apricot / M.S. Lopes, K.M. Sefc, M. Laimer [et al.] // *Mol. Ecol. Notes* – 2002 – Vol.2, – P.24–26.

24 Hagen, S. Genomic and cDNA microsatellites from apricot (*Prunus armeniaca* L.) / S. Hagen, J. Chaib, B. Fady [et al.] // *Mol. Ecol. Notes* – 2004 – Vol.4 – P.742-745.

25 Maghuly, F. Microsatellite variability in apricots (*Prunus armeniaca* L.) reflects their geographic origin and breeding history / F. Maghuly, E.G. Borroto Fernandez, S. Ruthner [et al.] // *Tree Genetics & Genomes* – 2005 – Vol.1 – P.151–165.

26 Decroocq, V. Development and transferability of apricot and grape EST microsatellite markers across taxa / V. Decroocq, Fave M.G., Hagen L. [et al.] // *Theor Appl Genet.* – 2003 – Vol.106 – P.912–922.

27 Sanchez-Pérez, R. Application of simple sequence repeat (SSR) markers in apricot breeding: molecular characterisation, protection, and genetic relationships / R. Sanchez-Pérez, D. Ruiz, F. Dicenta [et al.] // *Sci Hortic* – 2005 – Vol.103– P.305-315.

28 Yilmaz, K.U. Genetic diversity analysis based on ISSR, RAPD and SSR among Turkish Apricot Germplasms in Iran Caucasian eco-geographical group / K. U. Yilmaz, S. Paydas-Kargi, Y. Dogan [et al.] // *Scientia Horticulturae* – 2012 - Vol.138 – P.138–143.

29 Bourguiba, H. Impact of Mapped SSR Markers on the Genetic Diversity of Apricot (*Prunus armeniaca* L.) in Tunisia / H. Bourguiba, L. Krichen, J. M. Audergon [et al.] // *Plant Mol Biol Rep* – 2010 - Vol.28 – P.578–587.

30 Decroocq, V. Microsatellite markers in the hexaploid *Prunus domestica* species and parentage lineage of three European plum cultivars using nuclear and chloroplast simple-sequence repeats / V. Decroocq, L. S. Hagen, M.-G. Favi [et al.] // *Mol. Breeding* – 2004 - Vol.13 – P.135–142.

31 Xuan, H. Microsatellite markers (SSR) as a tool to assist in identification of European plum (*Prunus domestica*) / H. Xuan, Y. Ding, D. Spann [et al.] // *Acta. Hort.* - 2010 – Vol.918 – P.689-692.

32 Horvath, A. Phenotypic variability and genetic structure in plum (*Prunus domestica* L.), cherry plum (*P. cerasifera* Ehrh.) and sloe (*P. spinosa* L.) / A. Horvath, E. Balsemin, J.-C. Barbot [et al.] // *Scientia Horticulturae* – 2011 - Vol.129 – P.283–293.

33 Serrano, B. Molecular fingerprinting of *Prunus* rootstocks using SSRs / B. Serrano, J. Gómez-Aparisi, J.I. Hormaza // *J. Hortic. Sci. Biotech.* – 2002 - Vol.77 - P.368-372.

References

- 1 Arulsekhar, S. Parfitt D.E., Beres W., [et al.] Genetics of malate dehydrogenase isozymes in the peach / S. Arulsekhar, D.E. Parfitt, W. Beres [et al.] // *J. Heredity* – 1986 – Vol. 77 – P.49-51.
- 2 Messegueur, R. Identification of peach cultivars with pollen isozymes / R. Messegueur, P. Arua, M. Carrera // *Sci. Hort.* – 1987 – Vol.31 – P.107-117.
- 3 Warburton, M. L. Genetic diversity in peach (*Prunus persica* L. Batsch) revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and compared with inbreeding coefficients / M. L. Warburton, F. A. Bliss // *J. Am. Soc. Hort. Sci.* – 1996 – Vol.121 – P.1012-1019.
- 4 Morgante, M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics / M. Morgante, A. M. Olivieri // *Plant J.* – 1993 – Vol.3 – P.175-182.
- 5 Cipriani, G. AC/GT and AG/CT microsatellite repeats in peach [*Prunus persica* (L) Batsch]: isolation characterisation and cross-species amplification in *Prunus* / G. Cipriani, G. Lot, W.G. Huang [et al.] // *Theor Appl Genet.* – 1999 – Vol. 99 – P.65-72.
- 6 Testolin, R. Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batsch) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars / R. Testolin, T. Marrazzo, G. Cipriani [et al.] // *Genome* – 2000 – Vol. 43 – P.512-520.
- 7 Dirlewanger, E. 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. Dirlewanger, P. Cosson, M. Tavaud [et al.] // *Theor Appl Genet* – 2002 – Vol.105. – P.127-138.
- 8 Aranzana, MJ. Microsatellite variability in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch]: cultivar identification marker mutation pedigree inferences and population structure / MJ. Aranzana, J. Carbó, P. Arús // *Theor Appl Genet* – 2003 – Vol.106. – P.1341-1352.
- 9 Aranzana, MJ. Development and variation analysis of microsatellite markers in peach / MJ. Aranzana, J. Garcia-Mas, J. Carbo [et al.] // *Plant Breeding* – 2002 – Vol.121– P.87–92.
- 10 Aranzana, M.J. Genetic variation, population structure and linkage disequilibrium in peach commercial varieties / M.J. Aranzana, A. El. Kadri, W. Howad [et al.] // *BMC Genetics* – 2010 – P.11:69.
- 11 Yoon, J.H. Genetic diversity and ecogeographical phylogenetic relationships among peach and nectarine cultivars based on simple sequence repeat (SSR) markers / J.H. Yoon, D.C. Liu DC, W.S. Song [et al.] // *Amer Soc Hort Sci* – 2006 – Vol.131 – P.513-521.
- 12 Struss, D. Analysis of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using SSR and AFLP markers / D. Struss, R. Ahmad, S.M. Southwick [et al.] // *J Am Soc Hortic Sci* – 2003 – Vol.128 – P.904-909.
- 13 Cantini, C. DNA Fingerprinting of Tetraploid Cherry Germplasm Using Simple Sequence Repeats / C. Cantini, A. F. Iezzoni, W. F. Lamboy [et al.] // *J Am Soc Hortic Sci* – 2001 – Vol.126(2) – P.205–209.
- 14 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.
- 15 Kacar, A.Y. Sweet cherry cultivar identification by using SSR markers / A.Y. Kacar, A. Iezzoni, S. Cetiner // *J. Biol. Sci.* – 2005 – Vol.5 – P.616-619.
- 16 Gulen, H. Assessment of genetic relationships among 29 introduced and 49 local sweet cherry accessions in Turkey using AFLP and SSR markers / H. Gulen, A. Ipek, S. Ergin [et al.] // *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* – 2010 – Vol.85 – P.427-431.

17 Ercisli, S. Genetic diversity in wild sweet cherries (*Prunus avium*) in Turkey revealed by SSR markers / S. Ercisli, G. Agar, N. Yildirim [et al.] // *Genet. Mol. Res.* – 2011 – Vol.10(2) – P.1211-1219.

18 Martinez-Gomez, P. An extended interspecific gene pool available to peach and almond breeding characterized using simple sequence repeat (SSR) markers / P. Martinez-Gomez, S. Arulsekhar, D. Potter [et al.] // *Euphytica* – 2003. – Vol.131 – P.313–322.

19 Xie, H. SSR allelic variation in almond (*Prunus dulcis* Mill.) / H. Xie, Y. Sui, F.Q. Chang [et al.] // *Theor. Appl. Genet.* – 2006 – Vol.112 – P.366-372.

20 Martı, A.F. Company Genetic Diversity in Spanish and Foreign Almond Germplasm Assessed by Molecular Characterization with Simple Sequence Repeats / A. F. Martı, J. M. Alonso, M. T. Espiau [et al.] // *J Am Soc Hortic Sci* - 2009. - Vol.134(5) – P.535-542.

21 Hormaza, J.I. Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats / J.I. Hormaza // *Theor. Appl. Genet.* – 2002. – Vol.104 – P.321-328.

22 Romero, C. Genetic diversity of different apricot geographical groups determined by SSR markers / C. Romero, A. Pedryc, V. Munoz [et al.] // *Genome* – 2003 – Vol.46 – P.244–252.

23 Lopes, M.S. Identification of microsatellite loci in apricot / M.S. Lopes, K.M. Sefc, M. Laimer [et al.] // *Mol. Ecol. Notes* – 2002 – Vol.2, – P.24–26.

24 Hagen, S. Genomic and cDNA microsatellites from apricot (*Prunus armeniaca* L.) / S. Hagen, J. Chaib, B. Fady [et al.] // *Mol. Ecol. Notes* – 2004 – Vol.4 – P.742-745.

25 Maghuly, F. Microsatellite variability in apricots (*Prunus armeniaca* L.) reflects their geographic origin and breeding history / F. Maghuly, E.G. Borroto Fernandez, S. Ruthner [et al.] // *Tree Genetics & Genomes* – 2005 – Vol.1 – P.151–165.

26 Decroocq, V. Development and transferability of apricot and grape EST microsatellite markers across taxa / V. Decroocq, Fave M.G., Hagen L. [et al.] // *Theor Appl Genet.* – 2003 – Vol.106 – P.912–922.

27 Sanchez-Pérez, R. Application of simple sequence repeat (SSR) markers in apricot breeding: molecular characterisation, protection, and genetic relationships / R. Sanchez-Pérez, D. Ruiz, F. Dicenta [et al.] // *Sci Hortic* – 2005 – Vol.103– P.305-315.

28 Yilmaz, K.U. Genetic diversity analysis based on ISSR, RAPD and SSR among Turkish Apricot Germplasms in Iran Caucasian eco-geographical group / K. U. Yilmaz, S. Paydas-Kargi, Y. Dogan [et al.] // *Scientia Horticulturae* – 2012 - Vol.138 – P.138–143.

29 Bourguiba, H. Impact of Mapped SSR Markers on the Genetic Diversity of Apricot (*Prunus armeniaca* L.) in Tunisia / H. Bourguiba, L. Krichen, J. M. Audergon [et al.] // *Plant Mol Biol Rep* – 2010 - Vol.28 – P.578–587.

30 Decroocq, V. Microsatellite markers in the hexaploid *Prunus domestica* species and parentage lineage of three European plum cultivars using nuclear and chloroplast simple-sequence repeats / V. Decroocq, L. S. Hagen, M.-G. Favi [et al.] // *Mol. Breeding* – 2004 - Vol.13 – P.135–142.

31 Xuan, H. Microsatellite markers (SSR) as a tool to assist in identification of European plum (*Prunus domestica*) / H. Xuan, Y. Ding, D. Spann [et al.] // *Acta. Hort.* - 2010 – Vol.918 – P.689-692.

32 Horvath, A. Phenotypic variability and genetic structure in plum (*Prunus domestica* L.), cherry plum (*P. cerasifera* Ehrh.) and sloe (*P. spinosa* L.) / A. Horvath, E. Balsemin, J.-C. Barbot [et al.] // *Scientia Horticulturae* – 2011 - Vol.129 – P.283–293.

33 Serrano, B. Molecular fingerprinting of *Prunus* rootstocks using SSRs / B. Serrano, J. Gómez-Aparisi, J.I. Hormaza // *J. Hortic. Sci. Biotech.* – 2002 - Vol.77 - P.368-372.