

УДК 575.22: 634.22

UDC 575.22: 634.22

06.01.00 Агронимия

Agronomy

РАЗРАБОТКА МУЛЬТИПЛЕКСНЫХ НАБОРОВ SSR-МАРКЕРОВ ДЛЯ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ СОРТОВ АБРИКОСА ОБЫКНОВЕННОГО (*PRUNUS ARMENIACA L.*)

DEVELOPMENT OF MULTIPLEX SETS OF SSR MARKERS FOR GENOTYPING APRICOT VARIETIES (*PRUNUS ARMENIACA L.*)

Степанов Илья Владимирович¹
младший научный сотрудник
SPIN-код (РИНЦ): 3968-1982

Stepanov Ilya Vladimirovich¹
Junior Researcher
SPIN-code (RSCI): 3968-1982

Супрун Иван Иванович¹
к.б.н., зав. лабораторией
SPIN-код (РИНЦ): 7124-5304
supruni@mail.ru

Suprun Ivan Ivanovich¹
Cand.Biol.Sci., head of the laboratory
SPIN-code (RSCI): 7124-5304
supruni@mail.ru

Анатов Джалалудин Магомедович²
к.б.н., старший научный сотрудник
SPIN-код (РИНЦ): 7931-5160

Anatov Dzhahaludin Magomedovich²
Cand.Biol.Sci., Senior Researcher
SPIN-code (RSCI): 7931-5160

Лободина Елена Вадимовна¹
младший научный сотрудник
SPIN-код (РИНЦ): 5485-5500

Lobodina Elena Vadimovna¹
Junior Researcher
SPIN-code (RSCI): 5485-5500

Володина Екатерина Алексеевна¹
младший научный сотрудник
SPIN-код (РИНЦ): 6714-4924
¹ФГБНУ Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, лаборатория генетики и микробиологии, Краснодар, Россия.

Volodina Ekaterina Alekseevna¹
Junior Researcher
SPIN-code (RSCI): 6714-4924
¹North-Caucasian Federal Research Center of Horticulture, Viticulture and Vine production, Krasnodar, Russia

²ФГБУН Горный ботанический сад ДНЦ РАН, Лаборатория флоры и растительных ресурсов, г. Махачкала, Россия

²Mountain Botanical Garden of Dagestan Scientific Centre of Russian Academy of Sciences, Makhachkala, Russia

Генетические исследования абрикоса обыкновенного являются актуальным направлением в генетике плодовых культур. В связи с этим пополнение коллекции SSR-маркеров для генотипирования данной культуры является объективно значимой задачей. Была проведена апробация 16 SSR-маркеров, созданных ранее на миндале обыкновенном (PdUnchar2, PdSLD1, PdGMGT1, PdTrTFGT1, PdUnchar2, PdSLD1, PdGMGT1, PdTrTFGT1) и абрикосе сибирском (A3-72, A1-63, H2-22, A3-7-1, H2-5, A1-7, A3-9, H2-45), с целью оценки перспективности их применения для генотипирования сортов абрикоса обыкновенного. Оценка маркеров, проведенная на 3-х сортах различного происхождения, выявила маркеры и их комбинации оптимальные для их применения. В процессе исследования все апробированные SSR-маркеры были объединены в мультиплексные наборы, сформированные из 4 маркеров каждый. Это дает возможность осуществлять генотипирование по 4 маркерам при проведении единичной ПЦР. Один маркер

Genetic studies of apricot are the actual direction in the genetics of fruit crops. In this regard, the improvement of the collection of SSR markers for the genotyping of this culture is an objectively significant task. In a study for the 16 SSR-markers previously developed on almonds (PdUnchar2, PdSLD1, PdGMGT1, PdTrTFGT1, PdUnchar2, PdSLD1, PdGMGT1, PdTrTFGT1) and Siberian apricot (A3-72, A1-63, H2-22, A3-7-1, H2-5, A1-7, A3-9, H2-45), approbation and evaluation of the prospects of using for genotyping *Prunus armeniaca L.* were performed. Approbation, performed on 3 varieties of different origin, revealed markers and their combinations optimal for their use. During the study, all tested DNA markers were grouped into multiplex sets, including 4 markers. This allows carrying out genotyping simultaneously on 4 loci in the formulation of one reaction. One marker (PdUnchar2) from the studied sample included in the multiplex set did not show amplification. Five markers gave a monomorphic product. The remaining 11 SSR markers allowed us to obtain polymorphic, cultivar-

(PdUnchar2) из исследованной выборки включенный в мультиплексный набор не дал амплификации. Пять маркеров дали мономорфный продукт. Остальные 11 SSR маркеров позволили получить полиморфные сортоспецифичные SSR-фингерпринты для всех изученных сортов. Полученные в работе мультиплексные наборы будут применены в исследовательской практике, связанной с изучением полиморфизма сортов абрикоса обыкновенного

Ключевые слова: PRUNUS ARMENIACA, SSR-МАРКЕРЫ, ГЕНОТИПИРОВАНИЕ, АПРОБАЦИЯ ДНК-МАРКЕРОВ

specific SSR fingerprints for all the studied cultivar. These multiplex sets are proposed for use in studying the genetic polymorphism of the species *Prunus armeniaca* L.

Keywords: PRUNUS ARMENIACA, SSR MARKERS, GENOTYPING, APPROBATION OF DNA MARKERS

Doi: 10.21515/1990-4665-144-013

Введение SSR-маркеры, в настоящее время являются наиболее востребованным методом генотипирования плодовых культур, в том числе и косточковых. Перспективность использования SSR-генотипирования в исследовательской практике во многом обусловлена целым перечнем полезных в практике характеристик данного метода.

Одна из наиболее важных положительных характеристик SSR-маркирования это высокая степень воспроизводимости результатов генотипирования, позволяющая проводить сопоставление ДНК-фингерпринтов полученных в разных лабораториях. Этот факт делает данный метод более надежным и стабильным источником информации, нежели такие методы ДНК-маркирования как RAPD, ISSR, AFLP, IRAP.

Во многом это связано с высокой восприимчивостью перечисленных мультилокусных типов ДНК-маркеров к изменениям условий проведения ПЦР. В связи с этим сопоставление ДНК-фингерпринтов полученных с применением данных методов в различных лабораториях сильно затруднено и зачастую на практике не осуществляется. Применение же SSR маркеров позволяет избежать этого при оценке результатов анализа. В ходе установления размера амплифицированных областей SSR-маркеров ошибки в оценке данных незначительны и зависят от точности метода визуализации результатов

ПЦР. Применение наиболее эффективных методов для этих целей, включая анализ с использованием автоматических генетических анализаторов, позволяет получить наиболее точные и достоверные данные.

Высокий уровень полиморфизма является также одним из важных преимуществ микросателлитных ДНК-маркеров. Он обусловлен тем, что мутации происходят в микросателлитах на порядок чаще, чем в структурных генах, что связано с уникальным процессом вставки и выпадения тандемных повторов в микросателлитных последовательностях. Благодаря данной особенности, для большинства микросателлитных локусов свойственно значительное аллельное разнообразие. Кодоминантность является еще одной ключевой характеристикой SSR-маркеров. Для проверки достоверности родословной с помощью ДНК-маркеров это немаловажно, так как позволяет отслеживать вклад каждого из родителей в генотип потомка [1].

В настоящее время актуальной задачей в прикладной генетике растений остается разработка микросателлитных маркеров и апробация их на близкородственных видов для проведения дальнейших генетических исследований.

В первых работах, направленных на изучение генетического разнообразия абрикоса с применением SSR-маркеров [2; 3; 4], были задействованы наборы маркеров, предназначенных главным образом для персика и других видов *Prunus* [5; 6; 7]. В целом, 50-60% SSR-маркеров, разработанных для персика дали успешную амплификацию [5; 3] и выявили значительные уровни генетического разнообразие в абрикосе [2; 4; 3; 8]. Позднее были получены наборы праймеров с использованием информации о последовательности абрикоса [9; 10]. Первая значительная работа по генотипированию крупной выборки сортов была осуществлена

коллективом Maghuly et al. [11]. Данный исследовательский коллектив представил результаты, полученные с применением 10 полиморфных абрикосовых SSR-маркеров на коллекции из 133 сортов абрикоса. Так же оценка генетического разнообразия абрикоса и характеристики генплазмы абрикоса были выполнены с использованием молекулярных маркеров и в других работах [8; 12, 13; 14; 15]. Крупное исследование, в ходе которого было изучено генетическое разнообразие 183 генотипов абрикоса североафриканского происхождения (Алжир, Марокко и Тунис) с использованием 24 ядерных микросателлитных маркеров, было проведено в 2013 году [16].

Очевидно, что выявление эффективных микросателлитных маркеров для абрикоса обыкновенного, из перечня ДНК- маркеров, разработанных для других видов рода *Prunus*, является эффективным подходом в исследовательской практике. Это позволяет сократить время и финансовые издержки, необходимые для идентификации микросателлитных локусов в геноме *de novo* и создания эффективных праймерных пар, позволяющих получать продукты амплификации с данных SSR-последовательностей.

Исходя из актуальности вопроса пополнения базы эффективных SSR маркеров для использования в генетических исследования абрикоса обыкновенного, нами были поставлены следующие задачи:

- Провести апробацию SSR-маркеры, разработанные ранее для абрикоса сибирского и миндаля обыкновенного, на представителях вида абрикос обыкновенный;

- Сформировать мультиплексные наборы SSR-маркеров, позволяющие генотипировать образцы абрикоса обыкновенного одновременно по трем-четырем SSR-маркерам, в рамках одной ПЦР.

Материал и методы исследования Проведена апробация микросателлитных маркеров на трех сортах абрикоса, относящихся к

разным эколого-географическим группам: Шалах (Ирано-Кавказская группа), Изцюй (Китайская группа), Краснощекий (Европейская группа). Экстракцию проб ДНК проводили методом ЦТАБ [17] из тканей листа в фазу распускания. Для осуществления ПЦР был произведен подбор оптимальных параметров, таких как концентрация компонентов и температурного режима реакции. В результате был определен следующий оптимальный протокол: в общий объем ПЦР смеси 25 μL входили 50 нг ДНК, 0,25мМ dNTPs, 0,2 μM каждого праймера; 2,5 μL 10-х буфера (ООО «Сибэнзим»), 1 у Taq-полимеразы. Проводилась ПЦР по следующей программе: начальная денатурации - 3 минут при 94°C, далее 35 циклов: денатурация при 94°C - 45 секунд, этап отжига при 58°C - 45 секунд, элонгация при 72°C - 45 секунд; заключительный этап - элонгация 4 минуты 30 секунд при 72°C. На приборе ABI prism 3130 была осуществлена оценка размеров ПЦР продуктов. Полученные результаты были обработаны в программе Gene Mapper 4.1. В работе апробировали 16 SSR-маркеров, разработанных на абрикосе сибирском: A3-72, A1-63, H2-22, A3-7-1, H2-5, A1-7, A3-9, H2-45 и на миндале обыкновенном: PdUnchar2, PdSLD1, PdGMGT1, PdTrTFGT1, PdUnchar2, PdSLD1, PdGMGT1, PdTrTFGT1 [19, 20].

Результаты. При формировании мультиплексных наборов, размер ПЦР-продуктов SSR-маркеров является базовой характеристикой, учет которой позволяет подобрать оптимальные комбинации маркеров. В мультиплексный набор желательно включать микросателлитные маркеры с различающимися по размерам диапазонами аллелей. В ситуации, когда продукты ДНК-амплификации включенные в мультиплексную смесь обладают сходными размерами, достоверная интерпретация полученных результатов затруднена из-за эффекта наложения сигналов от флуорофорных меток. Единая температура отжига праймеров, маркеров из мультиплексного набора, является

необходимым условием качественного прохождения ПЦР в мультиплексной смеси.

Каждый SSR-маркер, включенный в мультиплексный набор, имеет характерный флуоресцентный краситель: 6-карбоксихромиин (R6G), карбоксифлуоресцеин (FAM), тетраметилкарбоксихромиин (TAMRA), карбокси-X-родамиин (ROX), с разной длиной волн флуоресценции. Каждый из выше приведенных флуоресцентных красителей обладает своим уникальным оптическим спектром, отличным от остальных красителей задействованных в наборе. В работе были применены 16 SSR маркеров, которые были сформированы в 4 мультиплексных набора каждый по четыре маркера. В первый мультиплексный набор вошли маркеры A3-72, A1-63, H2-22, A3-7-1; ко второму мультиплексному набору отнесены маркеры H2-5 A1-7 A3-9 H2-45; третий мультиплексный набор включает SSR маркеры PdUnchar2, PdSLD1, PdGMGT1, PdTrTFGT1; четвертый мультиплексный набор состоит из маркеров PdBSL3, PdshkC, PdPER, PdUnchar3. Перечисленные мультиплексные наборы отражены в таблице 1.

Для всех SSR-маркеров, приведенных в таблице, указана информация о типе флуоресцентного красителя и диапазоне размеров продуктов амплификации, полученных в нашей работе. Видно, что в большинстве случаев диапазоны размеров ПЦР продуктов по отдельным маркерам, входящим в один мультиплексный набор, не перекрывается. Это обеспечивает надежную интерпретацию данных по генотипированию образцов. Только по одному маркеру (PdUnchar2) из общей выборки не прошла амплификация.

Таблица 1 Мультиплексные наборы SSR маркеров.

№	Маркер	Флуорофор	Диапазон (п. н.)
1	A3-72	ROX	148*
	A1-63	TAMRA	177-193
	H2-22	R6G	225-230
	A3-7-1	FAM	294-306
2	H2-5	FAM	163-169
	A1-7	TAMRA	192*
	A3-9	R6G	213-217
	H2-45	ROX	251-257
3	PdUnchar2	R6G	- ¹
	PdSLD1	ROX	145-154
	PdGMGT1	TAMRA	196-209
	PdTrTFGT1	FAM	236*
4	PdBSL3	ROX	141*
	PdshkC	FAM	151*
	PdPER	R6G	261-273
	PdUnchar3	TAMRA	220-272

*У всех генотипов выявлена одна аллель

¹Отсутствует продукт амплификации

Пять маркеров дали мономорфный продукт амплификации по трем сортам абрикоса (A3-72, H2-5, PdTrTFGT1, PdBSL3, PdshkC). Однако, можно предположить, что данные маркеры могут проявить себя как полиморфные в случае расширения количества исследованных сортов.

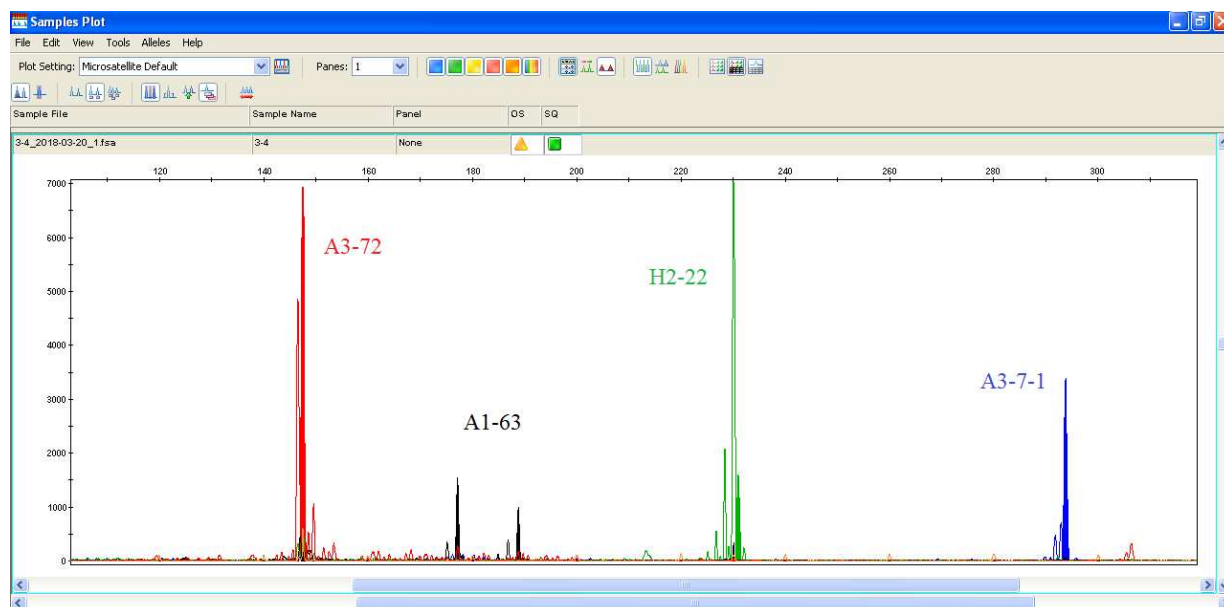


Рисунок 1 Генотипирование сорта Шалах с применением мультиплексной смеси №1 включающей маркеры A3-72, A1-63, H2-22, A3-7-1.

На представленной электрофореграмме видно, что для всех микросателлитных маркеров, включенных в данный мультиплексный набор, идентифицируются ПЦР-продукты, которые не перекрываются по размерам. Они отображены в виде пиков характерных цветов. Для всех трех сортов в ходе генотипирования были получены достоверно идентифицируемые ПЦР-продукты, что определено наличием четки, дискретных пиков на электрофореграмме. Видно, что по маркеру A1-63 детектировано одновременно два пика. Это соответствует гетерозиготности по данному микросателлитному локусу.

Как видно из представленных результатов мультиплексного фрагментного анализа, оптимальное сочетание ДНК-маркеров в

мультиплексных наборах, а также использование оптимизированных экспериментальных параметров (режим ПЦР - программы, концентрации праймеров, уровень разведения ПЦР - проб при проведении денатурации в ходе пробоподготовки для выполнения анализа на приборе ABIprism3130), позволило безошибочно идентифицировать целевые пики на электрофореграммах. Очевидно, что применение мультиплексного анализа дало возможность провести генотипирование одновременно по нескольким маркерам.

В ходе работы для сортов-объектов исследования были получены SSR-фингерпринты, представленные в таблице 2. Указан размер амплифицированных фрагментов в парах нуклеотидов. Два одинаковых значения характеризуют гомозиготность по искомому локусу, два разных значения – гетерозиготность.

Таблица 2 SSR-фингерпринты 3 сортов абрикоса по 16 маркерам

Сорта	PdUnchar2	PdSLD1	PdGMGT1	PdTrTFGT1
Краснощекий	-	145:145	196:209	236:236
Шалах	-	145:145	209:209	236:236
Hong Yu	-	145:154	209:209	236:236
	PdBSL3	PdshkC	PdPER	PdUnchar3
Краснощекий	141:141	151:151	264:273	220:272
Шалах	141:141	151:151	261:261	220:272
Hong Yu	141:141	151:151	261:274	220:272
	A3-72	A1-63	H2-22	A3-7-1
Краснощекий	148:148	189:189	230:230	294:294
Шалах	148:148	177:189	230:230	294:294
Hong Yu	148:148	191:193	225:225	304:306
	H2-5	A1-7	A3-9	H2-45
Краснощекий	164:166	192:192	214:214	251:253
Шалах	163:167	192:192	219:219	251:251
Hong Yu	167:169	192:192	213:217	257:257

Из результатов, представленных в таблице, видно, что каждый сорт обладает уникальным SSR-фингерпринтом.

Таким образом, сформированные и апробированные в работе мультиплексные наборы могут быть в дальнейшем применены в генетических исследованиях абрикоса обыкновенного. О высоком уровне кросс-воспроизводимости микросателлитных ДНК-маркеров, разработанных на виде абрикос сибирский и миндаль обыкновенный, при их использовании для генотипирования вида абрикос обыкновенный свидетельствует то факт, что из 16 апробированных ДНК-маркеров только один не дал амплификацию – PdUnchar2. Это позволяет говорить о перспективности использования такой стратегии поиска новых, информативных SSR-маркеров, перспективных для генотипирования сортов абрикоса. SSR-фингерпринты сортов, полученные в ходе работы, могут быть использованы в дальнейшем при необходимости уточнения родословных сортов, полученных с участием сортов Шалах, Краснощекий и Hong Yu в качестве одной из родительских форм, а также при возникновении спорных вопросов о сортовой принадлежности образцов.

Литература

- 1 Глазко В. И. ДНК-технологии в генетике и селекции: Курс лекций / В. И. Глазко, Т. Т. Глазко. // Краснодар: ВНИИ риса 2006 – 399 с.
- 2 Hormaza, J.I. Molecular characterization and similarity relationships among apricot (*Prunus armeniaca* L.) genotypes using simple sequence repeats. *Theor. Appl. Genet.*, 2002. - 104, 321–328.
- 3 Zhebentyayeva, T.N. Simple sequence repeat (SSR) analysis for assessment of genetic similarity in apricot germplasm. / T.N. Zhebentyayeva, G.L. Reighard, V.M. Gorina et al // *Theor. Appl. Genet.* 2003. - №106, - P.435–444.
- 4 Romero, C. Genetic diversity of different apricot geographical groups determined by SSR markers. / C. Romero, A. Pedryc, V. Munoz et al // *Genome* 2003. - №46, - P.244–252.
- 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 - №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, M.T. Marrazzo, G. Cipriani et al // *Genome* 2000. - №43, - P.512–520.

7 Aranzana, M.J. Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. / M.J. Aranzana, J. Garcia-Mas, J. Carbo, et al // *Plant Breed.* - 2002. - №121, - P.87-92

8 Sanchez-Perez, R. Application SSR markers in apricot breeding: molecular characterization, protection and genetic relationships. / R. Sanchez-Perez, D. Ruiz, F. Dicenta, et al // *Sci. Hortic.* - 2005. - №103, P.305–315.

9 Lopes, M.S. Identification of microsatellite loci in apricot. / M.S. Lopes, K.M. Sefc, M. Laimer et al // *Mol. Ecol. Notes* - 2002. - №2, - P.24–26.

10 Messina, R. New set of microsatellite loci isolated in apricot. / R. Messina, O. Lain, M.T. Marrazzo et al // *Mol. Ecol.* 2004. - Notes 4, - P.432–434.

11 Maghuly, F. Microsatellite variability in apricots (*Prunus armeniaca* L.) reflects their geographic origin and breeding history. / F. Maghuly, E.B. Fernandez, Sz. Ruthner et al // *Tree Genet. Genomes* - 2005. №1, - P.151–165.

12 Yilmaz, K.U. Morphological diversity of the turkish apricot (*Prunus Armeniaca* L.) germplasm in the irano-caucasian ecogeographical group. / K.U.Yilmaz, S. Paydas, -Kargı, S. Kafkas et al // *Turk. J. Agric. For.* - 2012a. - №36, - P.688–694.

13 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, -Kargı, S. Dogan et al // *Sci. Hortic.* 2012b. - №138, - P.138–143.

14 Raji, R. Investigation of variability of apricot (*Prunus armeniaca* L.) using morphological traits and microsatellite markers. / R. Raji, A. Jannatizadeh, R. Fattahi et al // *Sci. Hortic.* 2014. - №176, - P.225–231.

15 Krichena, L., Assessing the genetic diversity and population structure of Tunisian apricot germplasm. / Krichena, L., J.M. Audergonb, , N. Trifi-Faraha // 2014. *Sci. Hortic.* №172, - P.86–100.

16 Bourguiba H. Genetic relationships between local North African apricot (*Prunus armeniaca* L.) germplasm and recently introduced varieties *Scientia Horticulturae* // 2013 №152 P.61–69.

18 Murray, M. G., Thompson, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic Acids Research*, 1980. V. 10. P. 4321-4325.

19 Wang, Z. Mining new microsatellite markers for Siberian apricot (*Prunus sibirica* L.) from SSR-enriched genomic library / Z. Wang, H. Liu, J. Liu et al // *Scientia Horticulturae* -2014.- №166. - P.65–69.

20 Alisoltani, A. Parallel consideration of SSRs and differentially expressed genes under abiotic stress for targeted development of functional markers in almond and related *Prunus* species. / A. Alisoltani, S. Ebrahimi, S. Azarian et al // *Scientia Horticulturae* 2016. - №198(26), P.462-472

References

1 Glazko V. I. DNK-tekhnologii v genetike i selektsii: Kurs lektsiy / V. I. Glazko, T. T. Glazko. // Krasnodar: VNII risa 2006 – 399 s.

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

3 Zhebentyayeva, T.N. Simple sequence repeat (SSR) analysis for assessment of genetic similarity in apricot germplasm. / T.N. Zhebentyayeva, G.L. Reighard, V.M. Gorina et al // *Theor. Appl. Genet.* 2003. - №106, - P.435–444.

4 Romero, C. Genetic diversity of different apricot geographical groups determined by SSR markers. / C. Romero, A. Pedryc, V. Munoz et al // *Genome* 2003. - №46, - P.244–252.

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 - №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, M.T. Marrazzo, G. Cipriani et al // *Genome* 2000. - №43, - P.512–520.

7 Aranzana, M.J. Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. / M.J. Aranzana, J. Garcia-Mas, J. Carbo, et al // *Plant Breed.* - 2002. - №121, - P.87-92

8 Sanchez-Perez, R. Application SSR markers in apricot breeding: molecular characterization, protection and genetic relationships. / R. Sanchez-Perez, D. Ruiz, F. Dicenta, et al // *Sci. Hortic.* - 2005. - №103, P.305–315.

9 Lopes, M.S. Identification of microsatellite loci in apricot. / M.S. Lopes, K.M. Sefc, M. Laimer et al // *Mol. Ecol. Notes* - 2002. - №2, - P.24–26.

10 Messina, R. New set of microsatellite loci isolated in apricot. / R. Messina, O. Lain, M.T. Marrazzo et al // *Mol. Ecol.* 2004. - Notes 4, - P.432–434.

11 Maghuly, F. Microsatellite variability in apricots (*Prunus armeniaca* L.) reflects their geographic origin and breeding history. / F. Maghuly, E.B. Fernandez, Sz. Ruthner et al // *Tree Genet. Genomes* - 2005. №1, - P.151–165.

12 Yilmaz, K.U. Morphological diversity of the turkish apricot (*Prunus Armeniaca* L.) germplasm in the irano-caucasian ecogeographical group. / K.U.Yilmaz, S. Paydas, -Kargı, S. Kafkas et al // *Turk. J. Agric. For.* - 2012a. - №36, - P.688–694.

13 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, -Kargı, S. Dogan et al // *Sci. Hortic.* 2012b. - №138, - P.138–143.

14 Raji, R. Investigation of variability of apricot (*Prunus armeniaca* L.) using morphological traits and microsatellite markers. / R. Raji, A. Jannatizadeh, R. Fattahi et al // *Sci. Hortic.* 2014. - №176, - P.225–231.

15 Krichena, L., Assessing the genetic diversity and population structure of Tunisian apricot germplasm. / Krichena, L., J.M. Audergonb, , N. Trifi-Faraha // 2014. *Sci. Hortic.* №172, - P.86–100.

16 Bourguiba H. Genetic relationships between local North African apricot (*Prunus armeniaca* L.) germplasm and recently introduced varieties *Scientia Horticulturae* // 2013 №152 P.61–69.

18 Murray, M. G., Thompson, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // *Nucleic Acids Research*, 1980. V. 10. P. 4321-4325.

19 Wang, Z. Mining new microsatellite markers for Siberian apricot (*Prunus sibirica* L.) from SSR-enriched genomic library / Z. Wang, H. Liu, J. Liu et al // *Scientia Horticulturae* -2014.- №166. - P.65–69.

20 Alisoltani, A. Parallel consideration of SSRs and differentially expressed genes under abiotic stress for targeted development of functional markers in almond and related *Prunus* species. / A. Alisoltani, S. Ebrahimi, S. Azarian et al // *Scientia Horticulturae* 2016. - №198(26), P.462-472.