



## ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ МЕСТНЫХ СОРТОВ И ФОРМ ЯБЛОНИ АЗЕРБАЙДЖАНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ISSR-МАРКЕРОВ

АЛИЕВА Аян Али кызы, *Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана*

АЛИЕВ Рамиз Таги оглу, *Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана*

БАБАЕВА Севда Машаллах кызы, *Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана*

АББАСОВ Мехрадж Али оглу, *Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана*

ГУРБАНОВА Гемер Сейран кызы, *Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана*

СЕФЕРЗАДЕ Зумруд Сулдуз кызы, *Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана*

*В статье представлены результаты исследований, впервые проведенные на местных сортах и формах яблони, культивируемых в Азербайджане, с использованием 5 ISSR-праймеров. В целом было идентифицировано 39 ПЦР-фрагментов, из них 30 оказались полиморфными. В изученной коллекции яблони выявлен высокий уровень полиморфизма (73,34 %) и богатое генетическое разнообразие. В результате анализа полученных данных и на основе значений основных параметров (PIC, EMR, MI, RP, MRp), определяющих меру информативности маркеров, все 5 ISSR апробированных праймеров оказались эффективными для генотипирования образцов яблони, установлены наиболее эффективно работающие – UBC 855, UBC 812 и IS 15. Кластерный анализ позволил сгруппировать изученные образцы в 9 основных групп. Индекс генетического разнообразия варьировал от 0,50 до 0,89.*

Азербайджан является древнейшим очагом и центром формирования ряда ценных плодовых растений. Леса республики богаты дикорастущими видами и формами плодовых растений. Плодоводство здесь исторически зарождалось в лесных массивах горных районов. Такие лесосады создавались на расчищенных площадках путем прививки культурных сортов на дичках лесной яблони. Отдельные массивы такого типа садов, заложенные еще в прошлом столетии, сохранились и поныне. Для горных и низменных садов методом длительной народной селекции были созданы местные сорта яблони, широко известные за пределами республики. Лучшие из них до сих пор занимают ведущее положение в промышленном стандартном сортименте. К ним относятся Джир Гаджи, Сары турш, Шихи Джаны и др. Местная вековая селекция создала большое разнообразие весьма ценных сортов яблони. Многие из них к настоящему времени представлены единичными экземплярами и заслуживают глубокого изучения, а также размножения и внедрения в производство.

Яблоня по ареалу распространения среди семечковых пород занимает первое место. Веками и даже тысячелетиями культивируется и ведется селекция яблони народом Азербайджана.

Согласно международной ботанической номенклатуре, яблоня относится к роду яблони (*Malus*), подсемейству – Яблоневые (*Maloidae*), семейству – Розовые (*Rosaceae*), порядку – Розовые (*Rosales*), подклассу – Розиды (*Rosidae*). В Азербайджане,

по данным ряда авторов, в диком состоянии произрастает один вид яблони – *M. orientalis* (восточная яблоня). Есть предположения, что в лесах республики встречается низкорослая яблоня *M. pumila*. По некоторым указаниям на территории республики встречаются сплошные лесные массивы, состоящие из дикой яблони [2, 3].

Некоторые сорта и формы – уникальный селекционный материал народной селекции, устойчивые к засухе, болезням, вредителям, находятся под угрозой исчезновения. Исторически все закономерности изменчивости и наследственности изучались путем анализа морфологических характеристик. Различия по морфологическим признакам до настоящего времени остаются главным критерием в систематике растений при изучении мутационного процесса и исследовании филогенетических связей. Однако морфологические признаки не всегда имеют полную информативность, так как на них сильное влияние оказывают условия окружающей среды, которые чаще проявляются на поздних стадиях онтогенеза. Кроме того, наблюдается недостаточность морфологических данных при селекции на количественные признаки, такие как продуктивность, устойчивость к абиотическим стрессам, качество урожая и др. [1].

В нашей стране исследования по изучению уровня генетического разнообразия генотипов яблони с применением методов молекулярного анализа проводятся в ограниченном количестве.



Принимая во внимание огромную ценность яблони, необходима планомерная работа по изучению и сохранению богатейшего генофонда дикорастущих и культурных видов этого плодового дерева. Генетическое разнообразие представляет собой важный компонент генетической характеристики популяции, группы популяций или вида. Оценка генетического разнообразия важна при мониторинге генетической изменчивости, как в диких, так и в сельскохозяйственных видах и популяциях растений и животных; на основе получаемой генетической информации разрабатывают стратегию их сохранения и рационального использования.

Изучение генетического разнообразия основывается на морфологических, биохимических и молекулярных маркерах. Молекулярные маркеры представляют собой генетические маркеры, анализируемые на уровне ДНК. К ним применимы термины классической генетики, такие как локус, аллель, доминантный и кодоминантный тип наследования. Аллели маркерных локусов представляют собой различные формы (нуклеотидные последовательности, отличающиеся по длине и/или по нуклеотидным заменам) одного и того же маркера, расположенные на одинаковых участках (локусах) гомологичных хромосом. Если метод анализа маркера позволяет выявлять оба аллеля, то говорят о кодоминантном типе наследования данного маркера; если выявляется только один аллель – о доминантном наследовании.

Молекулярные маркеры имеют значительные преимущества по сравнению с другими методами исследования, так как они более надежны, информативны, достоверны и воспроизводимы. К тому же факторы окружающей среды не оказывают влияния на полученный результат по молекулярным методам анализа. Молекулярные маркеры основаны на полиморфизме последовательностей ДНК, возникающем в результате мутаций ДНК, таких как замена оснований, перестройка (вставка или делеция нуклеотидов), или ошибок репликации ДНК и появления повтора. Много маркеров, связанных с моногенными признаками (главным образом с устойчивостью к патогенам и вредителям), было найдено и для видов рода *Malus* [8, 9]. Таким образом, в настоящее время молекулярно-генетические маркеры активно используются для решения различных вопросов, связанных с определением видовой принадлежности, выяснения степени родства различных групп организмов, их генетического полиморфизма и филогении, а также в практических целях для обнаружения того или иного полезного признака.

Для определения генетического родства и различия между культурами большое внимание сосредоточено на использовании различных молекулярных маркеров, таких как RAPD (случайно амплифицированные полиморфные ДНК),

SSR (простые короткие повторы), ISSR (внутренние простые последовательные повторы) и AFLP (полиморфизм длин амплифицированных фрагментов). ISSR-анализ рассматривается как один из эффективных молекулярных маркеров, выявляющих генетический полиморфизм в популяциях яблони.

Целью данной работы – изучение при помощи ISSR-маркеров генетического разнообразия 45 местных сортов и форм яблони, культивируемых в Азербайджане и принадлежащих к двум географическим регионам.

**Методика исследований.** *Растительный материал.* Объектом для молекулярных исследований являлись 45 культивируемых образцов яблони (табл. 1). Фрагменты листьев для молекулярно-генетического анализа были собраны на территории двух регионов Азербайджана: Куба-Хачмазском и Шеки-Загаталинском).

*Молекулярный анализ.* При выделении геномной ДНК брали навески по 0,1 г из свежесобранных листьев, согласно ЦТАБ (цетилтриметиламмонийбромид) протоколу, предложенному Doyle et Doyle [5] с некоторыми модификациями. Концентрацию и степень чистоты молекулы ДНК определяли с помощью НаноДропа (Thermo, NANO DROP, 2000). Конечный объем реакционной смеси образца для ПЦР составлял 20 мкл, содержащей 2 мкл 10×ПЦР буфера, 2 мкл смеси dNTP (5 мМ), 1,5 мкл MgCl<sub>2</sub> (50 мМ), 2 мкл каждого праймера (15 пмоль/мкл), 0,1 мкл фермента *Taq* полимеразы (1 U/мкл) и 2 мкл выделенной ДНК (50 нг/мкл). Для мультилокусного межмикросателлитного анализа были использованы 5 полиморфных ISSR-праймеров длиной 15–18 нуклеотидов (табл. 2). В результате проведенной оптимизации были выбраны следующие условия амплификации: предварительная денатурация при температуре 94 °С в течение 5 мин, последующие 35 циклов – денатурация 94 °С (1 мин), температура отжига в зависимости от использованного праймера (45 с), синтез – 5 мин при 72 °С, финальный цикл элонгации при температуре 72 °С в течение 10 мин.

Амплификацию проводили в программируемом термоциклере T100 (Applied Biosystems, USA). Электрофорез ПЦР-продуктов проводили в 2%-м агарозном геле с добавлением этидиум бромид и визуализировали под ультрафиолетовым светом с использованием геля документирующей системы BioRad.

*Статистическая обработка полученных данных.* Анализ амплифицированных фрагментов был проведен с помощью компьютерной программы PAST [10]. Для выявления уровня полиморфизма маркеров между изученными генотипами данные были представлены в виде матрицы состояний бинарных признаков, в которых «наличие» или «отсутствие» ПЦР-фрагментов, одинаковых по размеру ампликонов, соответствова-

## Список образцов, использованных в работе, и их географическое распространение

№	Образец	Место сбора	№	Образец	Место сбора
1	Джаннат алма	Куба-Хач.	23	Гой алма	Шеки-Загат.
2	Шихиджаны	Куба-Хач.	24	Новруз алма	Шеки-Загат.
3	Подарок нефтяникам	Куба-Хач.	25	Конфат	Шеки-Загат.
4	Джир Гаджы	Куба-Хач.	26	Яйлыг алма	Шеки-Загат.
5	Гызыл Ахмеди	Куба-Хач.	27	Пишик баш	Шеки-Загат.
6	Азербайджан гюзели	Куба-Хач.	28	Бал алма	Шеки-Загат.
7	Гара турш	Куба-Хач.	29	Гызыл Ахмеди	Шеки-Загат.
8	Нефть алма	Куба-Хач.	30	Даш алма	Шеки-Загат.
9	Сары турш	Куба-Хач.	31	Ягуб алма	Шеки-Загат.
10	Эйюби	Куба-Хач.	32	Узун сунни синаб	Шеки-Загат.
11	Акбери	Куба-Хач.	33	Гарын тох	Шеки-Загат.
12	Элван турш	Куба-Хач.	34	Гуш гоз	Шеки-Загат.
13	Яшыл алма	Куба-Хач.	35	Гебеши алма	Шеки-Загат.
14	Нур алма	Куба-Хач.	36	Папаг алма	Шеки-Загат.
15	Аг чичек (дикий)	Куба-Хач.	37	Ширван	Шеки-Загат.
16	Гырмызы чичек (дик.)	Куба-Хач.	38	Шор	Шеки-Загат.
17	Мехти джиры	Куба-Хач.	39	Мугал	Шеки-Загат.
18	Аг алма	Куба-Хач.	40	Ненем алма	Шеки-Загат.
19	Кырмызы золаг	Куба-Хач.	41	Гыш шафраны	Шеки-Загат.
20	Гоз горен	Куба-Хач.	42	Амиль	Шеки-Загат.
21	Алибейли	Куба-Хач.	43	Шафран Загаталинский	Шеки-Загат.
22	Исмайыллы дик.	Куба-Хач.	44	Даш Демир	Шеки-Загат.
			45	Мурабба алма	Шеки-Загат.

Таблица 2

## Характеристика используемых ISSR-праймеров

№	ISSR-праймеры	Последовательность (5'-3')	Температура отжига праймера, °С
1	UBC-812	GAGAGAGAGAGAGAGAA	45
2	UBC-823	CTCTCTCTCTCTCTTT	57,1
3	UBC-855	ACACACACACACACTT	57,6
4	UBC-868	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	50
5	IS 15	ACACACACACACACCG	52

ло значениям 1 и 0. Построение дендрограммы и оценку генетической близости между образцами проводили на основе индекса генетического сходства Жаккарда, кластеризацию осуществляли с помощью метода UPGMA.

Коэффициент генетического разнообразия вычисляли согласно формуле Вейра [15]:

$$H = 1 - \sum_i^n p_i^2,$$

где  $P_i$  – частота встречаемости аллелей.

Для анализа информационного полиморфизма были использованы некоторые статистические параметры: PIC (величина информационного полиморфизма) и сопутствующие ему

показатели (EMR, MI, Rp, MRp) [4]. Величину информационного полиморфизма для каждого локуса вычисляли согласно формуле, предложенной Roldan-Ruiz [12]:

$$PIC_i = 2f_i(1 - f_i),$$

где  $PIC_i$  – PIC для локуса  $i$ ;  $f_i$  – частота встречаемости амплифицированных фрагментов (присутствующие спектры);  $1 - f_i$  – частота встречаемости неамплифицированных фрагментов (отсутствующие спектры). Среднее значение  $PIC_i$  по всем изученным локусам для каждого праймера дает нам величину PIC. Эффективное мультиплексное отношение (effective multiplex ratio, EMR) определяют как произведение общего чис-



ла полиморфных локусов и доли полиморфных локусов от их общего числа:

$$EMR = np(np/n),$$

где  $np$  – число полиморфных локусов;  $n$  – общее число локусов.

Маркерный индекс (marker index, MI) есть произведение величины информационного полиморфизма и эффективного мультиплексного отношения [14]:

$$MI = PIC \times EMR.$$

Чтобы отразить способность устанавливать различия между большим числом генотипов, использовали показатель разрешающей способности (resolving power, Rp) и средний показатель разрешающей способности (MRp) [11]:

$$Rp = \sum Ib,$$

где  $Ib = 1 - [2 \times (0,5 - p)]$  – информативность ампликона,  $p$  – доля особей, у которых выявлен ампликон  $I$ .

$$MRp = 1/nRp,$$

где  $n$  – число полиморфных локусов.

**Результаты исследований.** После повторных процедур амплификации ДНК из 10 протестированных праймеров были отобраны 5 наиболее эффективных для дальнейшего анализа. В общей сложности было идентифицировано 39 фрагментов, из них 30 (73,34 %) оказались полиморфными, 9 (26,66 %) мономорфными. Число амплифицированных фрагментов на локус варьировало от 6 до 11, а диапазон длин полученных фрагментов равнялся 100–2000 п.н. В среднем один праймер инициировал синтез 7,8 фрагментов. Наибольшее количество ампликонов было детектировано для праймера UBC 855. Количество полиморфных фрагментов ДНК варьировало от 3 до 11. Минимальное число идентифицировалось праймерами UBC 823 и UBC

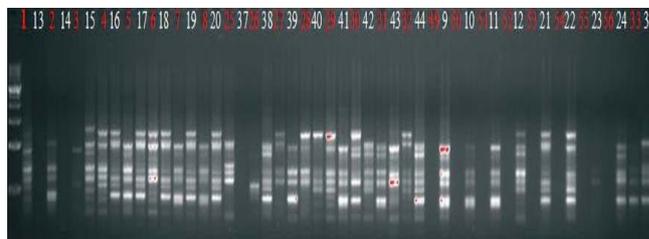


Рис. 1. Фрагмент профиля, полученного с помощью праймера UBC 855 (нумерация образцов согласно табл. 1)

868, максимальное – при амплификации ДНК с праймерами UBC 855. Среднее число полиморфных фрагментов на праймер составило 6,0. Было определено варьирование количества полиморфных локусов в зависимости от праймера: от 50 до 100 %. В среднем уровень полиморфизма, выявленный ISSR-анализом, составил 73,34 %. Для праймера UBC 855 определен 100%-й уровень полиморфизма (табл. 3).

В данном исследовании по каждому ISSR локусу был вычислен также индекс генетического разнообразия (ИГР). Среднее значение ИГР для всей изученной коллекции равнялось 0,73. Высокие значения индекса были выявлены праймерами UBC 812 и UBC 855 (0,85 и 0,89 соответственно), рис. 1.

М. Smolik и др. [13] использовали маркеры ISSR для изучения генетических сходств 8 сортов яблони. Из 30 праймеров 11 были использованы для анализа. Всего было получено 414 фрагментов, из которых 342 (83 %) – полиморфные. Согласно М. Smolik, у ISSR-маркеров уровень полиморфизма выше, чем у маркеров AFLP, представленных L. Goulao и С. Oliveira [7], и маркеров RAPD, описанных Z. Zhou и Y. Li [16].

В другой попытке L. Goulao и С. Oliveira [8] использовали 41 коммерческий сорт яблони и 7 праймеров ISSR. В результате было получено всего 252 фрагмента, из которых 176 (89,1 %) – полиморфные. Sh. Fazeli и др. [6] изучали генетическое разнообразие 25 генотипов яблони с 10 ISSR-маркерами. В общей сложности было иден-

Таблица 3

ISSR-праймеры и их статистические параметры

Праймер	Последовательность (5'-3')	КАФ*	КПФ**	Rp	PIC	EMR	MI	MRp	Полиморфизм, %	ИГР
UBC-812	(GA) <sub>8</sub> A	8	6	3,44	0,39	4,5	1,74	0,57	75	0,85
UBC-823	(TC) <sub>8</sub> C	6	4	1,74	0,32	2,7	0,87	0,44	66,7	0,64
UBC-855	(AC) <sub>8</sub> YT	11	11	6,44	0,36	11	3,96	0,59	100	0,89
UBC-868	(AG) <sub>8</sub> YT	6	3	1,18	0,31	1,5	0,47	0,39	50	0,50
IS 15	(GA) <sub>8</sub> CG	8	6	2,62	0,30	4,5	1,36	0,44	75	0,78
Всего		39	30							
Среднее значение		7,8	6,0	3,1	0,34	4,84	1,67	0,49	73,34	0,73

\* КАФ – количество амплифицированных фрагментов; \*\*КПФ – количество полиморфных фрагментов.



тифицировано 123 фрагмента, из них 105 (85 %) оказались полиморфными, 8 (15 %) – мономорфными.

В данном исследовании для 5 апробированных праймеров также подсчитаны значения PIC, MI, EMR, Rp и MRp. Применены некоторые статистические подходы для анализа информационного полиморфизма. Маркерные системы различают по мере их информативности, что, в свою очередь, зависит от степени их полиморфизма. Одним из основных параметров, определяющих меру информативности маркеров, является величина информационного полиморфизма. Как известно, для доминантных маркеров значение PIC изменяется от 0 до 0,5, поскольку для такого типа маркеров допускаются только два аллеля на локус и обе величины подвержены влиянию числа и частоты аллелей. Для отобранных нами локусов значение PIC варьировало от 0,30 до 0,39 и в среднем составило 0,34. Наименьшее значение индекса PIC выявлено для локуса IS 15, наибольшее – для UBC 812.

MI и EMR – одни из основных характеристик маркерных систем, вычисляются для каждого праймера. Выявлена положительная корреляция между EMR и MI. Праймеры с высоким числом полиморфных продуктов амплификации отличались наиболее высокими значениями EMR и MI. Установлена положительная корреляционная связь указанных параметров с количеством полиморфных фрагментов и отрицательная связь EMR с PIC. Параметры EMR и MI широко используются в многочисленных исследованиях с целью выявления информативного потенциала молекулярных маркеров. Показатели MI и EMR варьировали от 0,47 до 3,96 и от 1,5 до 11, в среднем составили 1,67 и 4,84 соответственно. Максимальные значения индекса MI и EMR выявлены праймером UBC 855, что показывает его информативность; минимальные – праймерами UBC 823 и UBC 868 соответственно.

Разрешающая способность является параметром, определяющим дискриминационный потенциал отобранных праймеров. Для всех изученных локусов она составляла 1,18–6,44, в среднем – 3,1. Наименьшее значение Rp установлено праймером UBC 868, наибольшее – UBC 855. Средняя разрешающая способность (MRp) варьировала от 0,39 (UBC 868) до 0,59 (UBC 855).

Важной особенностью маркерной системы является способность устанавливать различия между большим числом генотипов. Rp применяется для оценки дискриминационной способности молекулярных систем для большинства видов растений. В настоящей работе установлена значительная корреляционная связь Rp с EMR и MI. Кроме того Rp положительно коррелирует с числом амплифицируемых и полиморфных фрагментов.

В результате анализа полученных данных и на основе вычисленных значений основных параметров, определяющих меру информативности маркеров, можно заключить, что большинство изученных нами праймеров являются эффективными. UBC 812, UBC 855 и IS 15 выделились среди набора апробированных праймеров наиболее высокими показателями по уровню полиморфизма и по некоторым параметрам, определяющим информативность маркеров (EMR, MI, Rp); UBC 812 и UBC 855 отличились высокими значениями PIC, что позволяет рекомендовать их для идентификации и характеристики генотипов яблони.

На основе матрицы бинарных данных, составленной по ISSR-спектрам, был проведен кластерный анализ и построена дендрограмма, отражающая родственные отношения между сортами и формами. Генотипы были сгруппированы в 9 основных кластеров (рис. 2). Индекс генетического расстояния варьировал от 0,33 до 1,0. Из 45 образцов идентичными генотипами оказались 14, индекс генетического расстояния соответственно равнялся 0. У 31 образца было выявлено высокое генетическое разнообразие.

В кластере 3 идентичными были три образца, у них общая география происхождения. В кластере 4 шесть образцов и в кластере 9 три образца были идентичными и также имели общую географию происхождения. У этих сортов ряд общих морфологических признаков. При этом между некоторыми сортами, отобранными из одного географического региона, выявлено существенное генетическое различие. Например, образцы Шихиджаны и Гызыл Ахмеди были взяты из одного региона. Они локализовались в одном кластере, но в разных субкластерах, и индекс генетического расстояния между ними составил 0,89. Распределение этих генотипов из одного региона показывает на различную генетическую структуру сортов.

**Выводы.** В результате изучения генетической взаимосвязи сортов из двух регионов Азербайджана с использованием данных ISSR-анализа выявлена связь генетической организации генотипов яблони с их географическим распространением.

Самым многочисленным оказался кластер 3, в котором локализовались 11 изученных генотипов (24,4 %). Кроме того, был выделен один самостоятельный кластер № 8, что указывает на

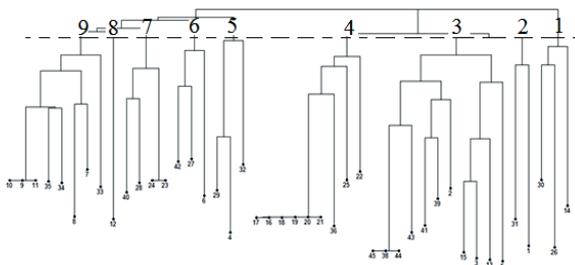


Рис. 2. Дендрограмма, построенная по результатам ISSR-анализа



уникальность его генотипа среди изученной коллекции.

Мы подтвердили, что ISSR-метод успешно применяется в генетических исследованиях. Он позволяет определить уровень генетического разнообразия, а также установить родственные связи между изученными образцами яблони. Выявление генетического разнообразия важно для планирования будущих исследований по изучению генетических ресурсов яблони, может быть использовано в селекционных программах различного направления.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Молекулярно-биологические исследования генофонда растений в ВИРе (1967–2007 гг.) / сост. В.В. Сидорова, А.В. Кошарев. – 2-е изд., доп. – СПб.: ВИР, 2007. – 134 с.
2. Садыгов А.Н., Садыгова Н.М. Яблоня в Азербайджане. – Баку: Седа, 2005. – С. 8–9.
3. Сорта яблони и их размножение в Азербайджане (рекомендация). – Баку, 1989. – С. 5–6.
4. Чесноков Ю.Ф. Оценка меры информационного полиморфизма генетического разнообразия // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – Т. 5. – С. 571–578.
5. Doyle J.L., Doyle J.J. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue // *Phytochem. Bull.*, 1987, Vol. 19, P. 11–15.
6. Fazeli Sh., Sheidai M., Farahani F. Noormohammadi Z. Looking for Genetic Diversity in Iranian Apple Cultivars (*Malus × domestica* Borkh.) *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran* 27(3): 205 - 215 (2016) <http://jscienc.ut.ac.ir> University of Tehran.
7. Goulao L., Oliveira C. M. Molecular characterization of cultivars of apple (*Malus × domestica* Borkh.) using microsatellite (SSR and ISSR) markers. *Euphytica*, 122: 81–89 (2001).
8. Genetic diversity and relationships in *Malus* sp. germplasm collections as determined by randomly amplified polymorphic DNA / N.C. Oraguize et al. // *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2001, T. 126, No. 3. – P. 318–328.
9. Microsatellites in *Malus × domestica* (apple): abundance, polymorphism and cultivar identification /

P. Guilford, S. Prakash, J. M. Zhu, E. Rikkerink, S. Gardiner, H. Bassett, R. Forster // *Theoretical and Applied Genetics*. 1997, T. 94, No. 2, P. 249–254.

10. Hammer O., Harper D.A., Ryan P.D. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis // *Palaeontologia Electronica*, 2001, Vol. 4, P. 1–9.

11. Prevost A., Wilkinson M.J. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars // *Theor. Appl. Genet.* 1999, Vol. 98, P. 107–112.

12. Roldan-Ruiz I., Dendauw J., Vanbockstaele E. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.) // *Mol. Breed.*, 2000, Vol. 6, P. 125–134.

13. Smolik M., Rzepka-Plevnes D., Stankiewicz I. Analysis of genetic similarity of apple tree cultivars. *Folia Horti*. 16: 87–94.

The utility of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis / W. Powell et al. // *Mol. Breed.*, 1996, Vol. 2, P. 225–238.

15. Weir B.S. *Genetic Data Analysis Methods for Discrete Genetic Data*. Sunderland, MA, USA: Sinauer Assoc. Inc., 1990.

16. Zhou Z.Q., Li Y.N. The RAPD evidence for the phylogenetic relationship of the closely related species of cultivated apple. *Genet. Res. Crop Evol.* 47: 353–357(2000).

**Алиева Аян Али кызы**, научный сотрудник, Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана.

**Алиев Рамиз Таги оглу**, д-р биол. наук, проф., Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана.

**Бабаева Севда Машаллах кызы**, д-р филос. по биол. наукам, Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана.

**Аббасов Мехрадж Али оглу**, д-р филос. по биол. наукам, Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана.

**Гурбанова Гемер Сейран кызы**, аспирант, Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана.

**Сеферзаде Зумруд Сулдуз кызы**, аспирант, Институт генетических ресурсов НАН Азербайджана.

AZ1106, Азербайджан, г. Баку, просп. Азадлыг, 155.

Тел.: (+994 12) 562-91-71.

**Ключевые слова:** яблоня; молекулярные маркеры; ISSR-праймеры; генетический полиморфизм; кластерный анализ.

#### EVALUATION OF GENETIC DIVERSITY OF LOCAL VARIETIES AND FORMS OF APPLES OF AZERBAIJAN WITH THE USE OF ISSR-MARKERS

**Aliyeva Ayan Ali kyzy**, Researcher, Genetic Resources Institute of ANAS. Azerbaijan.

**Aliyev Ramiz Tagi oglu**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Genetic Resources Institute of ANAS. Azerbaijan.

**Babayeva Sevda Mashallah kyzy**, Doctor of Biological Sciences, Genetic Resources Institute of ANAS. Azerbaijan.

**Abbasov Mekhradz Ali oglu**, Doctor of Biological Sciences, Genetic Resources Institute of ANAS. Azerbaijan.

**Gurbanova Gemer Seyran kyzy**, Post-graduate Student, Genetic Resources Institute of ANAS. Azerbaijan.

**Seferzade Zumrud Sulduz oglu**, Post-graduate Student, Genetic Resources Institute of ANAS. Azerbaijan.

**Keywords:** apple; molecular markers; ISSR-primers; genetic polymorphism, cluster analysis.

The article presents the results of a study of genetic polymorphism, for the first time carried out on apple va-

rieties and forms of Azerbaijan origin with using of 5 ISSR- markers. In total 39 PCR fragments were identified, of which 30 were polymorphic. The high level of polymorphism (73.34%) and the rich genetic diversity were identified among the studied apple collection. As a result of data analysis and based on the values of the basic parameters (PIC, EMR, MI, RP, MRP) determining informativeness of markers, all 5 ISSR primers were suitable for genotyping pomegranate accessions. The most effective markers (UBC 855, UBC 812 and IS 15) were identified among the set of primers tested. Dendrogram was constructed based on the data obtained, which enabled to group genotypes into 9 major clusters. Genetic similarity index ranged from 0.50 to 0.89. The results of the cluster analysis carried out on the basis of the study of polymorphism of 5 ISSR loci allowed to identify from 45 samples of 14 identical genotype, in 31 samples a high genetic diversity was revealed.

