

УДК 634.11: 631.527.2:632.4:577.2
DOI: 10.30679/2219-5335-2018-5-53-1-14

**ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ
УСТОЙЧИВОСТИ К ПАРШЕ
У СОРТОВ И ГИБРИДНЫХ ФОРМ
ЯБЛОНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ**

Лыжин Александр Сергеевич
канд. с.-х. наук
ведущий научный сотрудник

Савельева Наталья Николаевна
д-р биол. наук
ведущий научный сотрудник

*Селекционно-генетический центр
ВНИИГиСПР ФГБНУ
«ФНЦ имени И.В. Мичурина»,
Мичуринск, Россия*

В селекции яблони одной из приоритетных задач является создание сортов с моногенно детерминированным иммунитетом к парше.

Целью настоящего исследования являлось молекулярно-генетическое тестирование исходных форм и гибридных сеянцев

Яблони для идентификации носителей целевых аллелей генов моногенной устойчивости к парше *Rvi6*, *Rvi4*, *Rvi2*, *Rvi8*, а также уточнение характера их наследования в гибридном потомстве. Биологическими объектами исследования являлись сорта яблони различного эколого-географического происхождения, а также сеянцы гибридного фонда академика Российской академии наук, доктора с.-х. наук Н.И. Савельева.

В материалах данной статьи приведены результаты ДНК анализа сортов и гибридных сеянцев яблони по локусам моногенной устойчивости к парше (ген *Rvi6*, *Rvi4*, *Rvi2*, *Rvi8*). На основании проведённого молекулярно-генетического анализа уточнена генотипическая структура исходных форм. Молекулярно-генетический анализ исходных форм яблони с использованием маркеров VfC и

UDC 634.11: 631.527.2:632.4:577.2
DOI: 10.30679/2219-5335-2018-5-53-1-14

**IDENTIFICATION OF SCAB
RESISTANCE GENES
IN THE APPLE VARIETIES
AND HYBRID FORMS WITH USE
OF MOLECULAR MARKERS**

Lyzhin Aleksandr Sergeevich
Cand. Agr. Sci.
Leading Research Associate

Savel'eva Natalia Nikolaevna
Dr. Biol. Sci.
Leading Research Associate

*Breeding-genetical Center
ARRIG&BFP FSBSO
«I.V. Michurin FSC»,
Michurinsk, Russia*

In the apple breeding the one of the priority tasks is the creation of varieties with monogenic determining immunity to scab. The purpose of this study was the molecular-genetic testing of the original forms and hybrid seedlings of the apple-tree to identify the carriers of the target alleles of the monogenic resistance genes to scab – *Rvi6*, *Rvi4*, *Rvi2*, *Rvi8*, and also to clarify the nature of their inheritance in the hybrid progeny. Biological objects of the study were the apple varieties of different ecological and geographical origin, as well as seedlings of the hybrid fund of the academician of the Russian Academy of Sciences, doctor of agricultural sciences N.I. Saveliev. The materials of this article show the results of DNA analysis of apple varieties and hybrid seedlings at loci of monogenic resistance to scab (gene *Rvi6*, *Rvi4*, *Rvi2*, *Rvi8*). Based on the molecular-genetic analysis performed, the genotypic structure of the initial forms was refined. Molecular genetic analysis of the initial apple forms using the VfC and AL07-SCAR markers showed the presence of the *Rvi6* gene

AL07-SCAR показал присутствие в геноме гена *Rvi6* в гетерозиготном состоянии (*Rvi6rvi6*) у сортов Былина, Кандиль орловский, Академик Казаков, Имант, Валюта, Белорусское сладкое, Успенское, Prima. Сорт Golden Delicious и форма NR12740-7A имеют рецессивный гомозиготный генотип. В результате проведенного исследования и на основании молекулярно-генетического анализа уточнена генотипическая структура исходных форм и проанализировано совместное наследование в гибридном потомстве яблони локусов моногенной устойчивости к парше. Идентифицированы перспективные для селекции яблони источники генов *Rvi6*, *Rvi4*, *Rvi2*, *Rvi8*.

Ключевые слова: ЯБЛОНЯ, МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МАРКЕРЫ, УСТОЙЧИВОСТЬ К ПАРШЕ, ГЕНЫ *RVI6*, *RVI4*, *RVI2*, *RVI8*

in the heterozygous state (*Rvi6rvi6*) in the genomes of the Bylina, Kandil Orlovski, Akademik Kazakov, Imant, Valuta, Belarusskoe Sladkoe, Uspenskoe, Prima. The Golden Delicious variety and the NR12740-7A form have a recessive homozygous genotype. As a result of research carried out and on the molecular genetic analysis, the genotypic structure of the initial forms was refined and joint inheritance in the hybrid progeny of the apple-tree of loci of monogenic resistance to scab was analyzed. The sources of the genes *Rvi6*, *Rvi4*, *Rvi2*, *Rvi8*, which are promising for apple-tree breeding, have been identified.

Key words: APPLE-TREE, MOLECULAR MARKERS, SCAB RESISTANCE, *RVI6*, *RVI4*, *RVI2* AND *RVI8* GENES

Введение. В селекции яблони одной из приоритетных задач является создание сортов с моногенно детерминированным иммунитетом к парше. К настоящему времени идентифицировано 20 неаллельных генов, детерминирующих устойчивость яблони к различным расам *Venturia inaequalis* (Cooke), ко многим из которых подобраны высокоинформативные ДНК-маркеры [1]. В селекционной практике наиболее широкое распространение получил ген *Rvi6* (V_f), контролирующей устойчивость к пяти расам патогена [2]. Большинство других моногенных факторов устойчивости в селекционной работе используется редко [3].

Вместе с тем отмечены случаи преодоления отдельными расами парши (шестая, седьмая расы) устойчивости, индуцируемой геном *Rvi6* [4]. В связи с этим актуальной задачей, позволяющей повысить стабильность устойчивости, является вовлечение в селекционный процесс других генов устойчивости и их пирамидирование, то есть объединение в одном генотипе нескольких моногенных факторов иммунитета к парше, причём желательно совмещение функционально отличающихся генов устойчивости [5]. Также,

по некоторым данным, устойчивость растений яблони к парше усиливает доминантный гомозиготный статус гена *Rvi6* [6].

Определённые успехи по пирамидированию генов устойчивости яблони к *V. inaequalis* уже достигнуты: I.O. Baumgartneretal получены формы, совмещающие в генотипе три локуса моногенной устойчивости к парше (*Rvi6*, *Rvi2*, *Rvi4*) [7], M. Kellerhalsetal – сеянцы, совмещающие в генотипе локусы *Rvi6* и *Rvi2* [8], в России во ВНИИСПК получены формы яблони, имеющие генотип *Rvi6+Rvi5* [9]. Работа по совмещению в одном генотипе нескольких локусов селекционно значимых признаков также ведётся в ФНЦ им. И.В. Мичурина [10, 11].

Целью настоящего исследования являлось молекулярно-генетическое тестирование исходных форм и гибридных сеянцев яблони для идентификации носителей целевых аллелей генов моногенной устойчивости к парше *Rvi6*, *Rvi4*, *Rvi2*, *Rvi8*, а также уточнение характера их наследования в гибридном потомстве.

Объекты и методы исследований. Биологическими объектами исследования являлись сорта яблони различного эколого-географического происхождения, а также сеянцы гибридного фонда академика РАН, доктора с.-х. наук Н.И. Савельева. Для выявления гена *Rvi6* использовали внутригенный маркер VfC [12] и кодоминантный маркер AL07-SCAR [13], гена *Rvi4* – маркер AD13-SCAR [14], генов *Rvi2* и *Rvi8* – маркер OPL19-SCAR [15, 16]. Контролем присутствия в геноме аллелей устойчивости к парше являлись сорт Prima (*Rvi6*) и исходная форма NR12740-7A (*Rvi4*, *Rvi2*, *Rvi8*). Отрицательным контролем по изучаемым локусам являлся сорт Golden Delicious.

Нуклеотидная последовательность праймеров и размер целевых фрагментов приведены в табл. 1. Использованные в работе праймеры синтезированы ЗАО «Синтол» (Москва). Экстракция геномной ДНК была проведена

согласно протоколу компании Diversity Arrays Technology P/L [17] с модификациями. Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК, 1,5 mM dNTPs, 2,5 mM MgCl₂, 10 пМ каждого праймера, 1 ед. Таq-полимеразы и 2,5 mM 10x Таq-буфера (+ (NH₄)₂SO₄, -KCL). Все компоненты произведены фирмой Thermo Fisher Scientific.

Таблица 1 – Характеристика использованных в работе праймеров

Ген	Маркер	Нуклеотидная последовательность праймеров	Размер целевых фрагментов, п.н.
<i>Rvi6</i>	VfC	F 5'-GGTTTCCAAAGTCCAATTCC-3' R 5'-CGTTAGCATTTTGAGTTGAC-3'	286, 484, 646
	AL07-SCAR	F 5'-TGGAAGAGAGATCCAGAAAGTG-3' R 5'-CATCCCTCCACAAATGCC-3'	570, 823
<i>Rvi4</i>	AD13-SCAR	F 5'-GGTTCCTCTGTAAAGCTAG-3' R 5'-GGTTCCTCTGCCCAACAA-3'	950
<i>Rvi2/ Rvi8</i>	OPL19-SCAR	F 5'-ACCTGCACTACAATCTTCACTAATC-3' R 5'-GACTCGTTTCCACTGAGGATATTTG-3'	433

Аmplификацию проводили в термоциклере T100 производства фирмы «BIO-RAD» (США) по следующим программам:

- маркер VfC: 94 °C – 4 мин, 30 циклов: 94 °C – 1 мин, 58 °C – 1 мин, 72 °C – 1 мин; 72 °C – 7 мин;
- маркер AL07-SCAR: 95 °C – 10 мин, 35 циклов: 95 °C – 30 с, 59 °C – 1 мин, 72 °C – 2 мин; 72 °C – 10 мин;
- маркер AD13-SCAR: 94 °C – 2 мин, 30 циклов: 94 °C – 1 мин, 58 °C – 3 мин, 72 °C – 2 мин; 94 °C – 1 мин, 58 °C – 3 мин, 72 °C – 10 мин;
- маркер OPL19-SCAR: 94 °C – 2 мин 45 с, 40 циклов: 94 °C – 55 с, 55 °C – 55 с, 72 °C – 1 мин 39 с; 72 °C – 10 мин.

Разделение целевых продуктов маркеров осуществляли методом электрофореза в 2 % агарозном геле. Для определения длины амплифицированных фрагментов использовали маркер молекулярной массы Gene Ruler 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

Обсуждение результатов. Для идентификации в геноплазме яблони гена *Rvi6* использовали маркеры VfC и AL07-SCAR. Маркер VfC, разрабо-

таный на основании консервативных последовательностей *HcrV_f* паралогов, является внутригенным, следовательно, надёжность отбора составляет 100 % (рекомбинация между геном и маркером отсутствует). На электрофореграмме маркер VfC представлен продуктами размером 286, 484 и 646 п.н. Фрагменты размером 646 и 484 п.н. амплифицируются как у устойчивых, так и у восприимчивых генотипов яблони. Фрагмент размером 286 п.н. характерен только для иммунных к парше по гену *Rvi6* форм [12]. SCAR-маркер AL07, расположенный на расстоянии 0,2 сМ от гена *Rvi6* [18], является кодоминантным. Аллель *Rvi6* определяется по наличию на электрофореграмме фрагмента размером 570 п.н., *rvi6* – 823 п.н. Присутствие обоих фрагментов свидетельствует о гетерозиготном состоянии гена [19].

В некоторых случаях у форм с гетерозиготным генотипом может наблюдаться образование дополнительного третьего фрагмента, расположенного на электрофореграмме между фрагментами 570 и 823 п.н. По мнению Shupertetal, данный фрагмент является гетеродуплексом между ампликонами известного размера [20]. Молекулярно-генетический анализ исходных форм яблони с использованием маркеров VfC и AL07-SCAR показал присутствие в геноме гена *Rvi6* в гетерозиготном состоянии (*Rvi6rvi6*) у сортов Былина, Кандиль орловский, Академик Казаков, Имант, Валюта, Белорусское сладкое, Успенское, Prima. Сорт Golden Delicious и форма NR12740-7A имеют рецессивный гомозиготный генотип (табл. 2).

Ген *Rvi4* идентифицировали с использованием мультиаллельного маркера AD13-SCAR. На электрофореграмме маркер AD13-SCAR может быть представлен фрагментами размером 1300, 1100, 950 и 750 п.н. Фрагмент 950 п.н. свидетельствует о наличии в геноме доминантного аллеля гена *Rvi4* [14]. Среди изучаемых исходных форм аллель 950 п.н. маркер AD13-SCAR выявлен у сортов Кандиль орловский, Валюта и исходной формы NR12740-7A. Присутствие гена *Rvi4* у данных форм подтверждается также литератур-

ными данными [14, 21]. Сорты Былина, Академик Казаков, Имант, Белорусское сладкое, Успенское, Prima, Golden Delicious характеризуются рецессивным гомозиготным состоянием гена *Rvi4* (см. табл. 2).

Таблица 2 – Результаты ПЦР-анализа сортов яблони по локусам моногенной устойчивости к парше

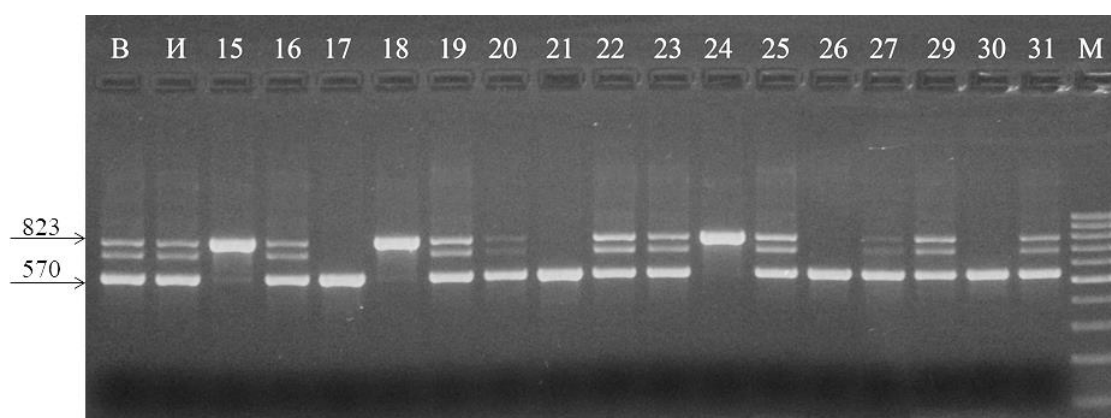
Сорт	<i>Rvi6</i>			<i>Rvi4</i>	<i>Rvi2/Rvi8</i>
	VfC	AL07-SCAR		AD13-SCAR	OPL19-SCAR
	286 п.н.	570 п.н.	823 п.н.	950 п.н.	433 п.н.
Былина	+	+	+	-	+
Кандиль орловский	+	+	+	+	+
Академик Казаков	+	+	+	-	+
Имант	+	+	+	-	+
Валюта	+	+	+	+	-
Белорусское сладкое	+	+	+	-	+
Успенское	+	+	+	-	+
Prima	+	+	+	-	+
NR 12740-7A	-	-	+	+	+
Golden Delicious	-	-	+	-	-

Маркер OPL19-SCAR первоначально использовался для идентификации в геноме яблони гена *Rvi2* [15]. Однако впоследствии в непосредственной близости от гена *Rvi2* был идентифицирован отдельный фактор устойчивости к парше – ген *Rvi8*. При этом было установлено, что целевой продукт маркера OPL19-SCAR – фрагмент 433 п.н. – амплифицируется как у носителей гена *Rvi2*, так и гена *Rvi8*, демонстрирующих различную степень устойчивости при искусственном заражении отдельными расами парши. Полученные данные позволили достоверно установить существование двух независимо наследуемых факторов устойчивости [16].

Таким образом, фрагмент 433 п.н. маркера OPL19-SCAR одновременно свидетельствует о наличии в геноме доминантных аллелей генов *Rvi2* и (или) *Rvi8*. В анализируемой коллекции маркер OPL19-SCAR выявлен у сортов Былина, Кандиль орловский, Академик Казаков, Имант, Белорусское сладкое, Успенское, Prima и формы NR12740-7A. Присутствие маркера

OPL19-SCAR в геноме сортов Белорусское сладкое, Имант, Кандиль орловский, Prima подтверждается также другими исследователями [21, 22]. Сорта Валюта и Golden Delicious характеризуются рецессивным гомозиготным состоянием генов *Rvi2* и *Rvi8* (генотип *rvi2rvi2+rvi8rvi8*) (см. табл. 2).

Использованные в гибридизации исходные формы характеризуются гетерозиготным состоянием гена *Rvi6*. В гибридном потомстве идентифицировано 3 комбинации аллелей гена *Rvi6* – *Rvi6Rvi6*, *Rvi6rvi6*, *rvi6rvi6*. Пример идентификации приведён на рис. 1.



В – Валюта, И – Иммант, 15-31 – гибридные сеянцы,
М – маркер молекулярного веса

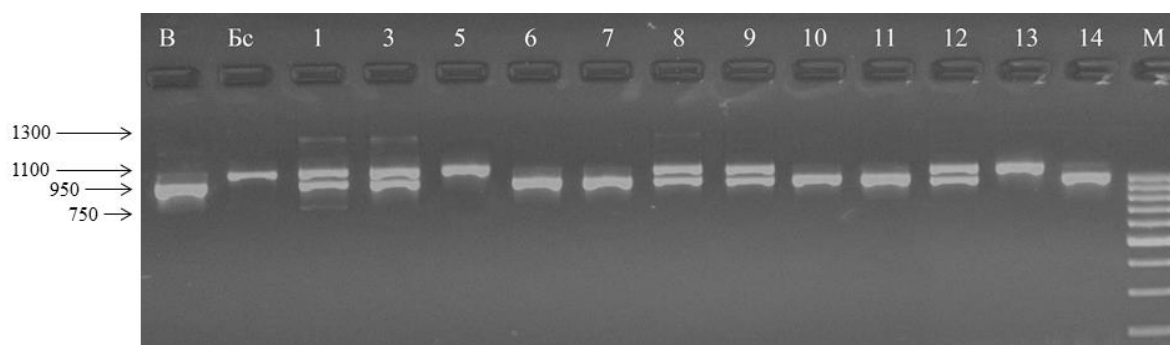
Рис. 1. Электрофоретический спектр маркера AL07-SCAR гибридной семьи Валюта x Иммант

Использованные в гибридизации исходные формы имеют гетерозиготный генотип по гену *Rvi6*, что теоретически позволяет получить до 75 % устойчивых сеянцев. Статистический анализ результатов амплификации маркеров VfC и AL07-SCAR показал соответствие фактического расщепления теоретически ожидаемому: по фенотипу – 3:1 (маркер VfC), по генотипу – 1:2:1 (маркер AL07-SCAR) при уровне значимости 0,05.

В комбинации скрещивания Валюта × Успенское доля иммунных к парше генотипов составила 77,8 %. При этом 55,6 % сеянцев характеризуются гетерозиготным сочетанием аллелей, а 22,2 % – имеет доминантный гомозиготный генотип (*Rvi6Rvi6*). В гибридном потомстве семьи Валюта ×

Белорусское сладкое выделено 68,0 % устойчивых к парше сеянцев (генотипы *Rvi6Rvi6* и *Rvi6rvi6*), из которых 20,6 % обладают гомозиготным доминантным, а 79,4 % – гетерозиготным сочетанием аллелей гена *Rvi6*. В комбинации скрещивания Валюта × Имант генотип *Rvi6rvi6* имеет 55,3 % проанализированных сеянцев, генотип *Rvi6Rvi6* – 29,8 % сеянцев. В комбинации скрещивания Кандиль орловский × Былина выделено 79,2 % сеянцев с геном *Rvi6*, из которых доминантный гомозиготный генотип имеет 28,9 % форм. В среднем по анализируемым комбинациям доминантный аллель гена *Rvi6* присутствовал у 79,2 % сеянцев, из которых 28,0 % имело доминантный гомозиготный генотип (*Rvi6rvi6*).

Идентификация гомозиготных по гену *Rvi6* форм имеет важное практическое значение в селекции яблони на иммунитет к парше, позволяя при использовании их в гибридизации получать до 100 % устойчивого потомства. Как отмечает Baumgartneretal, использование в скрещивании гомозиготных форм теоретически позволит избежать необходимости проведения фенотипического или генотипического анализа гибридного потомства по селективируемому признаку, тем самым сократив время анализа, трудовые и финансовые затраты [7].



В – Валюта, Бс – Белорусское сладкое, 1-14 – гибридные сеянцы, М – маркер молекулярного веса

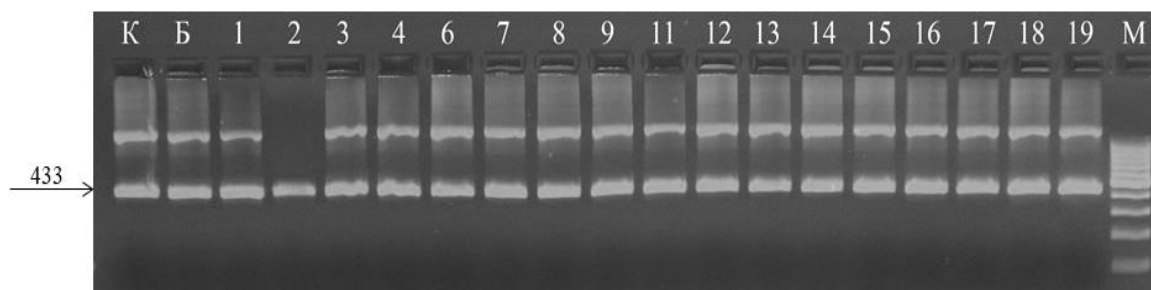
Рис. 2. Электрофоретический спектр маркера AD13-SCAR гибридной семьи Валюта х Белорусское сладкое

В анализируемых комбинациях скрещивания донорами сцепленного с геном *Rvi4* аллеля маркера AD13-SCAR являются сорта Кандиль орловский и Валюта. В результате молекулярно-генетического анализа в гибридном потомстве идентифицированы формы, у которых данный аллель присутствует (предполагаемый генотип *Rvi4rvi4*), а также сеянцы с рецессивным гомозиготным (*rvi4rvi4*) состоянием гена. Пример идентификации приведён на рис. 2.

Статистический анализ расщепления гибридного потомства яблони по маркеру AD13-SCAR показал соответствие полученных результатов наследования теоретически ожидаемому расщеплению 1:1 при уровне значимости 0,05.

На основании полученных данных генотип исходных форм Кандиль орловский и Валюта по гену *Rvi4* предположительно определён как гетерозиготный (*Rvi4rvi4*). Количество сеянцев с геном *Rvi4* (предполагаемый генотип *Rvi4rvi4*) в среднем по комбинациям составило 49,3 %. Максимальное количество выявлено в комбинации скрещивания Валюта × Имант – 63,3 %, минимальное – в комбинации скрещивания Валюта × Академик Казаков (35,3 %).

С использованием маркера OPL19-SCAR в гибридном потомстве идентифицированы носители доминантного аллеля генов *Rvi2/Rvi8* и формы с рецессивным гомозиготным генотипом (*rvi2rvi2+rvi8rvi8*). Пример идентификации приведён на рис. 3 и 4.

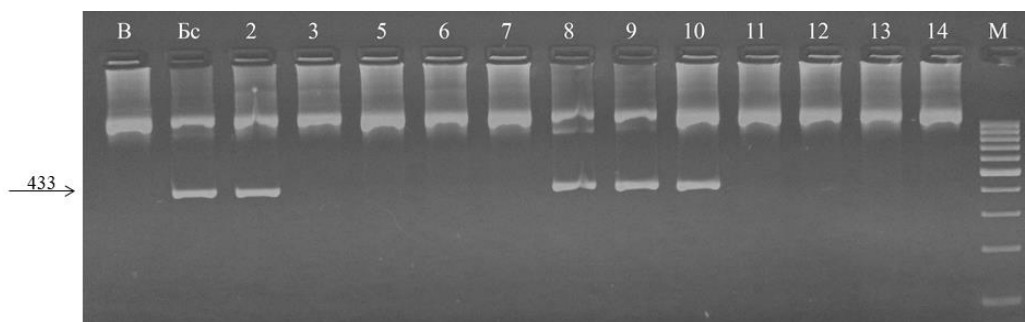


К – Кандиль орловский, Б – Былина, 1-19 – гибридные сеянцы,
М – маркер молекулярного веса

Рис. 3. Электрофоретический спектр маркера OPL19-SCAR гибридной семьи Кандиль орловский x Былина

В комбинации скрещивания Кандиль орловский x Былина родительские формы характеризуются присутствием маркера OPL19-SCAR. Анализ гибридных семян данной комбинации показал присутствие целевого фрагмента размером 433 п.н. у 100 % проанализированных генотипов. Однако в реципрокном скрещивании Былина × Кандиль орловский отмечено расщепление по данному признаку: фрагмент 433 п.н. идентифицирован у 39 (90,7 %) из 43 семян, что соответствует теоретически ожидаемому расщеплению 15:1 ($\chi^2=0,683$). Полученные результаты позволяют определить генотип исходных форм Кандиль орловский и Былина как гетерозиготный по обоим локусам ($Rvi2rvi2+Rvi8rvi8$). Маркер OPL19-SCAR является кодоминантным, что позволяет идентифицировать аллельное состояние гена [23].

Для большинства семян на электрофореграмме характерно наличие двух продуктов (433 п.н., сцепленного с доминантным аллелем генов $Rvi2$ и $Rvi8$ и фрагмента около 1200 п.н., соответствующего рецессивным аллелям), что свидетельствует о гетерозиготном статусе изучаемых генотипов (см. рис. 3, 4). Однако у образца №2 (селекционный номер 31-11-2) гибридной комбинации Кандиль орловский x Былина на электрофореграмме присутствует только фрагмент 433 п.н. (рис. 4), что позволяет сделать предположение о доминантном гомозиготном состоянии генов $Rvi2$ и $Rvi8$ (генотип $Rvi2Rvi2+Rvi8Rvi8$). Данный семя также характеризуется наличием гена $Rvi6$ (в гетерозиготной форме) и отсутствием гена $Rvi4$.



В – Валюта, Бс – Белорусское сладкое, 1-13 – гибридные семена,
М – маркер молекулярного веса

Рис.4. Электрофоретический спектр маркера OPL19-SCAR гибридной семьи Валюта x Белорусское сладкое

В комбинациях скрещивания Валюта × Успенское, Валюта × Имант, Валюта × Академик Казаков целевой фрагмент маркера OPL19-SCAR размером 433 п.н. идентифицирован у 86,3 %, 76,1 % и 71,4 % проанализированных гибридных форм, соответственно.

Анализ результатов расщепления по критерию χ^2 показал соответствие фактических данных наследования маркера OPL19-SCAR теоретически ожидаемому расщеплению 3:1, что свидетельствует о гетерозиготности по обоим генам родительских форм Успенское, Имант, Академик Казаков ($Rvi2rvi2+Rvi8rvi8$).

В комбинации скрещивания Валюта ($rvi2rvi2+rvi8rvi8$) × Белорусское сладкое ($Rvi2/Rvi8$) маркер OPL19-SCAR присутствует у 46,7 % генотипов, что соответствует теоретически ожидаемому расщеплению 1:1 ($\chi^2=0,201$). Полученные результаты соответствуют дигибриднему анализирующему скрещиванию вида Aabbхаabb, следовательно, сорт Белорусское сладкое характеризуется гетерозиготным состоянием одного и рецессивным гомозиготным – второго гена (генотип $Rvi2rvi2+rvi8rvi8$ или $rvi2rvi2+Rvi8rvi8$).

Заключение. Таким образом, на основании молекулярно-генетического анализа уточнена генотипическая структура исходных форм и проанализировано совместное наследование в гибридном потомстве яблони локусов моногенной устойчивости к парше. Идентифицированы перспективные для селекции источники генов *Rvi6*, *Rvi4*, *Rvi2*, *Rvi8*.

Литература

1. Khajuria, Y.P. Genetics of resistance in apple against *Venturia inaequalis* (Wint.) Sck. / Y.P. Khajuria, S. Kaul, A.A. Wani, M.K. Dhar // Tree Genetics & Genomes, 2018. – V. 14(2). – P. 16. Doi: 10.1007/s11295-018-1226-4.
2. Dayton, D.F. Independent genes in *Malus* for resistance to *Venturia inaequalis* / D.F. Dayton, E.B. Williams // Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci., 1968. – V. 92. – P. 89-94.
3. Patocchi, A. Towards improvement of marker assisted selection of apple scab resistant cultivars: *Venturia inaequalis* virulence surveys and standardization of molecular marker alleles associated with resistance genes / A. Patocchi, A. Frei, J.E. Frey, M. Kellerhals // Molecular Breeding, 2009. – V. 24(4). – P. 337-347. Doi: 10.1007/s11032-009-9295-6.

4. Lespinasse, V. Apple scab, resistance and durability. New races and strategies for the future / V. Lespinasse // Progress in Temperate Fruit Breeding. Kluwer Acad. Publ., 1994. – P. 105-106.

5. MacHardy, W.E. Parasitic and biological fitness of *Venturia inaequalis*: relationship to disease management strategies / W.E. MacHardy, D.M. Gadoury, C. Gessler // Plant Dis., 2001. – V. 85(10). – P. 1036-1051. Doi: 10.1094/PDIS.2001.85.10.1036.

6. Tartarini, S. Efficiency of marker assisted selection (MAS) for the V_f scab resistance gene / S. Tartarini, S. Sansavini, B. Vinatzer, C. Domizi // Actahorticulturae, 2000. – V. 538. – P. 549-552. Doi: 10.17660 / Acta Hort. 2000.538.96.

7. Baumgartner, I.O. Breeding elite lines of apple carrying pyramided homozygous resistance genes against apple scab and resistance against powdery mildew and fire blight / I.O. Baumgartner, A. Patocchi, J.E. Frey, A. Peil, M. Kellerhals // Plant Mol Biol., 2015. – V. 33. – P. 1573-1583. Doi:10.1007/s11105-015-0858-x.

8. Kellerhals, M. Approaches in breeding high quality apples with durable disease resistance / M. Kellerhals, I.O. Baumgartner, S. Schütz, L. Lussi, R. Andreoli, J. Gassmann, A. Patocchi // Reviewed Papers, 2016. – P. 12-17.

9. Супрун, И.И. Использование молекулярно-генетических методов установления закономерностей наследования для выявления доноров значимых признаков яблони / И.И. Супрун, Е.В. Ульяновская, Е.Н. Седов, Г.А. Седышева, З.М. Серова // Плодоводство и виноградарство Юга России [Электронный ресурс], 2012. – № 13(1). – С. 1-10. – Режим доступа: <http://journal.kubansad.ru/pdf/12/01/01.pdf>.

10. Савельев, Н.И. Отбор перспективных генотипов яблони на колонновидность и устойчивость к парше с помощью диагностических ДНК-маркеров / Н.И. Савельев, А.С. Лыжин, Н.Н. Савельева // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2016. – V. 20(3). – P. 329-332. Doi:10.18699/VJ16.122.

11. Лыжин, А.С. Молекулярно-генетический анализ гибридного потомства яблони по локусам моногенной устойчивости к парше / А.С. Лыжин, Н.Н. Савельева // Плодоводство и ягодоводство России, 2017. – Том 49. – С. 213-216.

12. Afunian, M.R. Linkage $Vfa4$ in *Malus domestica* and *Malus floribunda* with V_f resistance to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* / M.R. Afunian, P.H. Goodwin, D.M. Hunter // Plant Pathology, 2004. – V. 53. – P. 461-467. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2004.01047.x.

13. Tartarini, S. Development of reliable PCR markers for the selection of the V_f gene conferring scab resistance in apple / L. Gianfranceschi, S. Sansavini, C. Gessler // Plant Breeding, 1999. – V. 118. – P. 183-186.

14. Boudichevskaia, A. Development of multiallelic SCAR marker for the scab resistance gene $Vr1/Vh4/Vx$ from R12740-7A apple and its utility for molecular breeding / A. Boudichevskaia, H. Flachowsky, A. Peil, C. Fischer, F. Dunemann // Tree Genetics & Genomes, 2006. – V. 2(4). – P. 186-195. Doi: 10.1007/s11295-006-0043-3.

15. Bus, V.G.M. The $Vh2$ and $Vh4$ scab resistance genes in two differential hosts derived from Russian apple R12740-7A map to the same linkage group of apple / V.G. M. Bus, E.H.A. Rikkerink, E.W. van de Weg, R.L. Rusholme, S.E. Gardiner, H.C.M. Bassett, L.P. Kodde, L. Parisi, F.N.D. Laurens, E. Meulenbroek, K.M. Plummer // Molecular Breeding, 2005a. – V. 15. – P. 103–116. Doi: 10.1007/s11032-004-3609-5.

16. Bus, V.G.M. The $Vh8$ locus of a new gene-for-gene interaction between *Venturia inaequalis* and the wild apple *Malus sieversii* closely linked to the $Vh2$ locus in *Malus pumila* R12740-7A / V.G. M. Bus, F.N.D. Laurens, W.E. van de Weg, R.L. Rusholme, E.H.A. Rikkerink, S.E. Gardiner, H.C.M. Bassett, L.P. Kodde, K.M. Plummer // New Phytologist, 2005b. – V. 166. – P. 1035-1049. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01395.x.

17. DArT, 2014 URL: http://www.diversityarrays.com/sites/default/files/resurces/DArT_DNA_isolation.pdf (дата обращения: 10.07.2018).

18. Xu, M.L. Saturation mapping of the apple scab resistance gene V_f using AFLP markers / M.L. Xu, S.S. Korban // *Theor. Appl. Genet.*, 2000. – V. 101. – P. 844-851.
19. Patrascu, B. Marker assisted selection for response attack of *Venturia inaequalis* in different apple genotypes / B. Patrascu, D. Pamfil, R. Sestras, C. Botez, I. Gaboreanu, A. Barbos, C. Qin, R. Raluca, I. Bondrea, E. Dirle // *Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj.*, 2006. – V. XXXIV. – P. 121-132.
20. Shupert, D. Segregation of scab resistance in three apple populations: molecular marker and phenotypic analyses / D. Shupert, A.P. Smith, J. Janick, P.B. Goldsbrough, P.M. Hirst // *Hort Science*, 2004. – V. 39(6). – P. 1183-1184.
21. Urbanovich, O. Identification of scab resistance genes in apple trees by molecular markers / O. Urbanovich, Z. Kazlovskaya // *Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture. Sodininkysteir Daržinin kyste*, 2008. – V. 27. – P. 347-357.
22. Patzak, J. Identification of apple scab and powdery mildew resistance genes in czech apple (*Malus× domestica*) genetic resources by PCR molecular markers / J. Patzak, F. Paprštejn, A. Henychová // *Czech J. Genet. Plant Breed.*, 2011. – V. 47(4). – P. 156-165.
23. Papp, D. Suitability of old apple varieties in organic farming, based on their resistance against apple scab and powdery mildew / D. Papp, I. Király, M. Tóth // *Organic Agriculture*, 2016. – V. 6(3). – P. 183-189. Doi: 10.1007/s13165-015-0126-2.

References

1. Khajuria, Y.P. Genetics of resistance in apple against *Venturia inaequalis* (Wint.) Cke. / Y.P. Khajuria, S. Kaul, A.A. Wani, M.K. Dhar // *Tree Genetics & Genomes*, 2018. – V. 14(2). – P. 16. Doi: 10.1007/s11295-018-1226-4.
2. Dayton, D.F. Independent genes in *Malus* for resistance to *Venturia inaequalis* / D.F. Dayton, E.B. Williams // *Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci.*, 1968. – V. 92. – P. 89-94.
3. Patocchi, A. Towards improvement of marker assisted selection of apple scab resistant cultivars: *Venturia inaequalis* virulence surveys and standardization of molecular marker alleles associated with resistance genes / A. Patocchi, A. Frei, J.E. Frey, M. Kellerhals // *Molecular Breeding*, 2009. – V. 24(4). – P. 337-347. Doi: 10.1007/s11032-009-9295-6.
4. Lespinasse, V. Apple scab, resistance and durability. New races and strategies for the future / V. Lespinasse // *Progress in Temperate Fruit Breeding*. Kluwer Acad. Publ., 1994. – P. 105-106.
5. MacHardy, W.E. Parasitic and biological fitness of *Venturia inaequalis*: relationship to disease management strategies / W.E. MacHardy, D.M. Gadoury, C. Gessler // *Plant Dis.*, 2001. – V. 85(10). – P. 1036-1051. Doi: 10.1094/PDIS.2001.85.10.1036.
6. Tartarini, S. Efficiency of marker assisted selection (MAS) for the V_f scab resistance gene / S. Tartarini, S. Sansavini, B. Vinatzer, C. Domizi // *Actahorticulturae*, 2000. – V. 538. – P. 549-552. Doi: 10.17660 / Acta Hort. 2000.538.96.
7. Baumgartner, I.O. Breeding elite lines of apple carrying pyramided homozygous resistance genes against apple scab and resistance against powdery mildew and fire blight / I.O. Baumgartner, A. Patocchi, J.E. Frey, A. Peil, M. Kellerhals // *Plant Mol Biol.*, 2015. – V. 33. – P. 1573-1583. Doi: 10.1007/s11105-015-0858-x.
8. Kellerhals, M. Approaches in breeding high quality apples with durable disease resistance / M. Kellerhals, I.O. Baumgartner, S. Schütz, L. Lussi, R. Andreoli, J. Gassmann, A. Patocchi // *Reviewed Papers*, 2016. – P. 12-17.
9. Suprun, I.I. Ispol'zovanie molekulyarno-geneticheskix metodov ustanovleniya zakonomernostej nasledovaniya dlya vy'yavleniya donorov znachimy`x priznakov yabloni / I.I. Suprun, E.V. Ul'yanovskaya, E.N. Sedov, G.A. Sedy`sheva, Z.M. Serova // *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii [E`lektronny`j resurs]*, 2012. – № 13(1). – S. 1-10. – Rezhim dostupa: <http://journal.kubansad.ru/pdf/12/01/01.pdf>.

10. Savel`ev, N.I. Otbor perspektivny`x genotipov yabloni na kolonnovidnost` i ustojchivost` k parshe s pomoshh`yu diagnosticheskix DNK-markerov / N.I. Savel`ev, A.S. Ly`zhin, N.N. Savel`eva // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii, 2016. – V. 20(3). – P. 329-332. Doi:10.18699/VJ16.122.

11. Lyzhin, A.S. Molekulyarno-geneticheskij analiz gibridnogo potomstva yabloni po lokusam monogennoj ustojchivosti k parshe / A.S. Lyzhin, N.N. Savel`eva // Plodovodstvo i yagodovodstvo Rossii, 2017. – Tom 49. – S. 213-216.

12. Afunian, M.R. Linkage *Vfa4* in *Malus domestica* and *Malus floribunda* with *Vf* resistance to the apple scab pathogen *Venturia inaequalis* / M.R. Afunian, P.H. Goodwin, D.M. Hunter // Plant Pathology, 2004. – V. 53. – P. 461-467. Doi: 10.1111/j.1365-3059.2004.01047.x.

13. Tartarini, S. Development of reliable PCR markers for the selection of the *Vf* gene conferring scab resistance in apple / L. Gianfranceschi, S. Sansavini, C. Gessler // Plant Breeding, 1999. – V. 118. – P. 183-186.

14. Boudichevskaia, A. Development of multiallelic SCAR marker for the scab resistance gene *Vr1/Vh4/Vx* from R12740-7A apple and its utility for molecular breeding / A. Boudichevskaia, H. Flachowsky, A. Peil, C. Fischer, F. Dunemann // Tree Genetics & Genomes, 2006. – V. 2(4). – P. 186-195. Doi: 10.1007/s11295-006-0043-3.

15. Bus, V.G.M. The *Vh2* and *Vh4* scab resistance genes in two differential hosts derived from Russian apple R12740-7A map to the same linkage group of apple / V.G. M. Bus, E.H.A. Rikkerink, E.W. van de Weg, R.L. Rusholme, S.E. Gardiner, H.C.M. Bassett, L.P. Kodde, L. Parisi, F.N.D. Laurens, E. Meulenbroek, K.M. Plummer // Molecular Breeding, 2005a. – V. 15. – P. 103–116. Doi: 10.1007/s11032-004-3609-5.

16. Bus, V.G.M. The *Vh8* locus of a new gene-for-gene interaction between *Venturia inaequalis* and the wild apple *Malus sieversii* is closely linked to the *Vh2* locus in *Malus pumila* R12740-7A / V.G. M. Bus, F.N.D. Laurens, W.E. van de Weg, R.L. Rusholme, E.H.A. Rikkerink, S.E. Gardiner, H.C.M. Bassett, L.P. Kodde, K.M. Plummer // New Phytologist, 2005b. – V. 166. – P. 1035-1049. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01395.x.

17. DArT, 2014 URL: http://www.diversityarrays.com/sites/default/files/resources/DaRT_DNA_isolation.pdf(data obrashheniya: 10.07.2018).

18. Xu, M.L. Saturation mapping of the apple scab resistance gene *Vf* using AFLP markers / M.L. Xu, S.S. Korban // Theor. Appl. Genet., 2000. – V. 101. – P. 844-851.

19. Patrascu, B. Marker assisted selection for response attack of *Venturia inaequalis* in different apple genotypes / B. Patrascu, D. Pamfil, R. Sestras, C. Botez, I. Gaboreanu, A. Barbosa, C. Qin, R. Raluca, I. Bondrea, E. Dirle // Not. Bot. Hort. Agrobot. Cluj., 2006. – V. XXXIV. – P. 121-132.

20. Shupert, D. Segregation of scab resistance in three apple populations: molecular marker and phenotypic analyses / D. Shupert, A.P. Smith, J. Janick, P.B. Goldsbrough, P.M. Hirst // Hort Science, 2004. – V. 39(6). – P. 1183-1184.

21. Urbanovich, O. Identification of scab resistance genes in apple trees by molecular markers / O. Urbanovich, Z. Kazlovskaya // Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture. Sodininkysteir Daržinin kyste, 2008. – V. 27. – P. 347-357.

22. Patzak, J. Identification of apple scab and powdery mildew resistance genes in Czech apple (*Malus domestica*) genetic resources by PCR molecular markers / J. Patzak, F. Paprštejn, A. Hencychová // Czech J. Genet. Plant Breed., 2011. – V. 47(4). – P. 156-165.

23. Papp, D. Suitability of old apple varieties in organic farming, based on their resistance against apple scab and powdery mildew / D. Papp, I. Király, M. Tóth // Organic Agriculture, 2016. – V. 6(3). – P. 183-189. Doi: 10.1007/s13165-015-0126-2. 2012. T.65. V.2. P. – 185-193.