

УДК 634.11: 631.527.2:632.4:577.2

UDC 634.11: 631.527.2:632.4:577.2

DOI 10.30679/2219-5335-2021-1-67-1-9

DOI 10.30679/2219-5335-2021-1-67-1-9

**МАРКЕР-ОПОСРЕДОВАННЫЙ
СКРИНИНГ ИММУННЫХ К ПАРШЕ
(RV16+RV14) ГЕНОТИПОВ ЯБЛОНИ***

**MARKER-ASSISTED SCREENING
OF SCAB RESISTANT (RV16+RV14)
APPLE GENOTYPES***

Лыжин Александр Сергеевич
канд. с.-х. наук
ведущий научный сотрудник
лаборатории физиологии устойчивости
и геномных технологий

Lyzhin Alexandr Sergeyevich
Cand. Agr. Sci.
Leading Research Associate
of Laboratory of Physiology
of Resistance and Genomic Technologies

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

Savel'eva Natalia Nikolaevna
Dr. Biol. Sci.
Leading Research Associate
of Gene Pool Laboratory

*Федеральное государственное
бюджетное научное учреждение
«ФНЦ имени И. В. Мичурина»,
Мичуринск, Россия*

*Federal State Budget
Scientific Institution
«I.V. Michurin FSC»,
Michurinsk, Russia*

Моногенная устойчивость к парше – важный селекционный признак яблони. Использование молекулярных маркеров позволяет с высокой надёжностью на ранних этапах онтогенеза определить присутствие в геноме необходимых генов и сократить время селекционного процесса. В представленном исследовании показаны результаты ДНК анализа гибридных сеянцев яблони по генам *Rvi6* и *Rvi4* моногенной устойчивости к парше. Биологическими объектами исследования являлись исходные формы яблони сортов Академик Казаков, Былина, Валюта Имант, Кандиль орловский и сеянцы гибридных комбинаций Былина × Кандиль орловский, Кандиль орловский × Былина, Валюта × Имант, Валюта × Академик Казаков. Экстракция геномной ДНК проводилась из молодых листьев растений яблони согласно методу DArT.

Monogenic scab resistance is important breeding trait of apple-tree. The use of molecular markers allows us in the early stages of ontogenesis to determine with high reliability the presence of the necessary genes in the genome and to reduce the time of the breeding process. The present study shows the results of the DNA analysis of apple hybrid seedlings on *Rvi6* and *Rvi4* genes of monogenic scab resistance. The biological objects of the study were apple initial forms of Akademik Kazakov, Bylina, Valuta, Imant and Kandil' Orlovskiy and also the seedlings of combinations of crosses Bylina × Kandil' Orlovskiy, Kandil' Orlovskiy × Bylina, Valuta × Imant, Valuta × Akademik Kazakov. Total genomic DNA was extracted from the fresh apple leaves using

* Исследование выполнено при финансовой поддержке Тамбовской области в рамках научного проекта № 23-МУ-19 (02).

*The study was carried out with financially supported of the Tambov Region within the framework of the scientific project No. 23-МУ-19 (02).

Для идентификации гена *Rvi6* использовали SCAR маркер AL07, гена *Rvi4* – мультиаллельный SCAR маркер AD13. Проанализировано совместное наследование указанных генов в гибридном потомстве. Среднее количество сеянцев яблони с генотипом *Rvi6+Rvi4* по комбинациям скрещивания составило 34,8 %. Идентифицированы формы, совмещающие в геноме доминантный аллель гена *Rvi4* с геном *Rvi6* в доминантном гомозиготном состоянии (*Rvi6Rvi6*): 3-11-4, 3-11-33, 3-11-46 (Былина × Кандиль орловский), 31-11-17, 31-11-25, 31-11-42 (Кандиль орловский × Былина), 9-12-9, 9-12-30 (Валюта × Имант), 6-12-23, 6-12-24 (Валюта × Академик Казаков). Наибольшее количество сеянцев, совмещающих ген *Rvi4* и с геном *Rvi6* в доминантном гомозиготном состоянии, выявлено в комбинации Кандиль орловский × Былина (11,6 %), наименьшее их количество – в гибридной комбинации Валюта × Имант (6,4 %).

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

the CTAB methods according to DArT. The *Rvi6* gene was identified with SCAR marker AL07. The presence of *Rvi4* gene was detected with the multiallelic SCAR marker AD13. The joint inheritance of characteristics these genes in hybrid combinations was analyzed. The average number of apple seedlings with the genotype *Rvi6+Rvi4* on analyzed combinations of crosses were 34.8%. Identified forms combining dominant allele *Rvi4* with *Rvi6* gene in the homozygous dominant state (*Rvi6Rvi6*) in genome: 3-11-4, 3-11-33, 3-11-46 (Bylina × Kandil' Orlovskiy), 31-11-17, 31-11-25, 31-11-42 (Kandil' Orlovskiy × Bylina), 9-12-9, 9-12-30 (Valuta × Imant), 6-12-23, 6-12-24 (Valuta × Akademik Kazakov). The largest number of hybrid seedlings combining the *Rvi4* gene with *Rvi6* gene in the homozygous dominant state was identified in the combination of crosses like Kandil' Orlovskiy × Bylina (11.6%), the smallest number – in the hybrid combination of Valuta × Imant (6.4 %).

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

Введение. Парша, возбудителем которой является сумчатый гриб *Venturia inaequalis* (Cooke), – одно из наиболее вредоносных заболеваний яблони. К настоящему времени у яблони идентифицировано 20 неаллельных генов, детерминирующих устойчивость к различным расам парши, из которых в селекции наиболее широко используется ген *Rvi6*, впервые идентифицированный у *Malus floribunda* 821 [1, 2]. Другие гены устойчивости к парше в селекционной работе используется редко [3].

Вместе с тем в некоторых регионах (Северная Европа, Великобритания, Северная Америка) отмечены отдельные случаи поражения паршой генотипов яблони с геном *Rvi6*, свидетельствующие о преодолении отдельными расами парши устойчивости, индуцируемой геном *Rvi6* [4-6]. В связи

с этим для повышения стабильности и долговременности устойчивости необходимо объединение (пирамидирование) в одном генотипе нескольких функционально отличающихся генов или локусов количественных признаков [2, 7]. Также по некоторым данным устойчивость растений яблони к парше усиливает доминантное гомозиготное состояние гена *Rvi6* [8].

Значительно повысить эффективность процесса пирамидирования генов устойчивости позволяют методы молекулярного маркирования с использованием сцепленных с целевыми локусами диагностических ДНК-маркеров. Использование ДНК-маркеров позволяет с высокой надёжностью, вне зависимости от фенотипического проявления признака, дифференцировать генотипы яблони по отдельным детерминантам устойчивости и выявить перспективные генотипы [9-11].

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

Объекты и методы исследований. Биологическими объектами исследования являлись сорта и сеянцы яблони гибридного фонда академика РАН, доктора с.-х. наук Н.И. Савельева.

Для идентификации гена *Rvi6* моногенной устойчивости яблони к парше был использован кодоминантный маркер AL07-SCAR [8], гена *Rvi4* – доминантный маркер AD13-SCAR [12]. Целевыми продуктами маркера AL07-SCAR являются фрагменты размером 570 п.н. (соответствует доминантному аллелю *Rvi6*) и 823 п.н. (соответствует рецессивному аллелю *rvi6*). Присутствие обоих фрагментов свидетельствует о гетерозиготном состоянии гена [13].

Целевым продуктом маркера AD13-SCAR является фрагмент размером 950 п.н. (соответствует доминантному аллелю *Rvi4*). Также может наблюдаться амплификация фрагментов размером 1300, 1100, 750 п.н., наличие которых не связано с устойчивостью к парше по гену *Rvi4* [12]. Контролем присутствия в геноме аллелей устойчивости к парше являлись сорт Prima (*Rvi6*) и исходная форма NR12740-7A (*Rvi4*). Отрицательным контролем по изучаемым локусам являлся сорт Golden Delicious.

Использованные в работе праймеры, синтезированы ЗАО «Синтол» (Москва) и имели следующую нуклеотидную последовательность:

AL07-For 5'-TGG AAGAGAGATCCAGAAAGTG-3'

AL07-Rev 5'-CATCCCTCCACAAATGCC-3'

AD13-For 5'-GGTTCCTCTGTAAAGCTAG-3'

AD13-Rev 5'-GGTTCCTCTGCCCAACAA-3'

Экстракция геномной ДНК была проведена согласно протоколу компании Diversity Arrays Technology P/L [14] с модификациями. Реакционная смесь для ПЦР объемом 15 мкл содержала: 20 нг ДНК, 1,5 мМ dNTPs, 2,5 мМ MgCl₂, 10 пМ каждого праймера, 1 ед. Taq-полимеразы и 2,5 мМ 10x Taq-буфера (+ (NH₄)₂SO₄, -KCL). Все компоненты произведены фирмой Thermo Fisher Scientific.

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

– маркер AL07-SCAR: 95 °С – 10 мин, 35 циклов: 95 °С – 30 с, 59 °С – 1 °мин, 72 °С – 2 мин; 72 °С – 10 мин;

– маркер AD13-SCAR: 94 °С – 2 мин, 30 циклов: 94 °С – 1 мин, 58 °С – 3 °мин, 72 °С – 2 мин; 94 °С – 1 мин, 58 °С – 3 мин, 72 °С – 10 мин.

Разделение целевых продуктов маркеров осуществляли методом электрофореза в 2 % агарозном геле. Гелевые пластины окрашивали 0,1 % раствором бромистого этидия. В качестве буферной системы использовался 1x TBE (трис-боратный буфер). Напряженность электрического поля при

электрофорезе составила 3,9-4,5 В/см. Для определения длины амплифицированных фрагментов использовался маркер молекулярной массы Gene-Ruler 100 bp DNA Ladder (Thermo Fisher Scientific).

Обсуждение результатов. Ген *Rvi6* локализован в группе сцепления 1 в локусе гомологичных рецептор-подобных генов *HcrVf1*, *HcrVf2*, *HcrVf3*, *HcrVf4* [15], ген *Rvi4* – в проксимальной части группы сцепления 2 [16], следовательно, их наследование в гибридном потомстве происходит независимо, что позволяет получить генотипы с комплексом ценных признаков. Пример идентификации гена *Rvi6* в гибридном потомстве яблони с использованием маркера AL07-SCAR приведён на рис. 1, гена *Rvi4* с использованием маркера AD13-SCAR – на рис. 2.

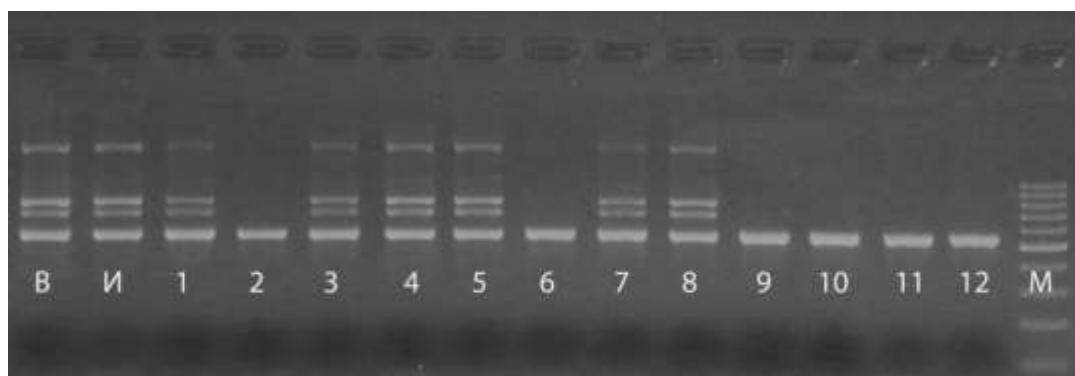


Рис. 1. Электрофоретический спектр маркера AL07-SCAR гибридной семьи Валюта × Имант
В – Валюта, И – Имант, 1 – 12 – гибридные сеянцы,
М – маркер молекулярного веса

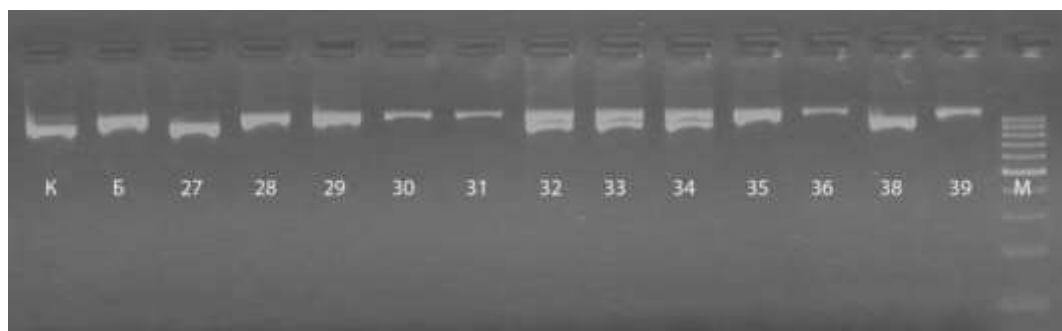


Рис. 2. Электрофоретический спектр маркера AD13-SCAR гибридной семьи Кандиль орловский × Былина
К – Кандиль орловский, Б – Былина, 27 – 39 – гибридные сеянцы,
М – маркер молекулярного веса

Согласно проведенным ранее исследованиям [17] генотип исходных форм яблони имеет вид: сорта Кандиль орловский и Валюта – *Rvi6rvi6Rvi4rvi4*; сорта Былина, Имант, Академик Казаков – *Rvi6rvi6rvi4rvi4*. В связи с этим гибридное потомство анализируемых комбинаций скрещивания представлено 6 уникальными генотипическими классами: *rvi6rvi6rvi4rvi4*, *Rvi6rvi6rvi4rvi4*, *Rvi6Rvi6rvi4rvi4*, *rvi6rvi6Rvi4rvi4*, *Rvi6rvi6Rvi4rvi4*, *Rvi6Rvi6Rvi4rvi4*, из которых наибольший практический интерес имеют генотипы *Rvi6rvi6Rvi4rvi4* и *Rvi6Rvi6Rvi4rvi4*, так как представляют собой сочетание доминантных аллелей двух генов. Результаты совместного наследования генов *Rvi6* и *Rvi4* в гибридном потомстве яблони анализируемых комбинаций скрещивания отражены в таблице.

Совместное наследования генов *Rvi6* (маркер AL07-SCAR) и *Rvi4* (маркер AD13-SCAR) в гибридном потомстве яблони

Комбинация скрещивания (<i>Rvi6rvi6Rvi4rvi4</i> × <i>Rvi6rvi6rvi4rvi4</i>)	Вероятность совместного наследования генов (генотип <i>Rvi6+Rvi4</i>), %	
	фактически	теоретически
Былина × Кандиль орловский	36,9	37,5
Кандиль орловский × Былина	39,5	37,5
Валюта × Имант	35,5	37,5
Валюта × Академик Казаков	27,3	37,5

Как следует из данных таблицы, в анализируемых комбинациях скрещивания функциональные аллели обоих генов унаследовало от 27,3 до 39,5 % семян при среднем по комбинациям значении 34,8 %.

Сочетание гена *Rvi4* с геном *Rvi6* в доминантном гомозиготном состоянии (генотип *Rvi6Rvi6Rvi4rvi4*) выявлено: в комбинации скрещивания Былина × Кандиль орловский – у 8,6% (сеянцы №3-11-4, 3-11-33, 3-11-46 и др.), комбинации Кандиль орловский × Былина – 11,6 % (сеянцы №31-11-17, 31-11-25, 31-11-42 и др.), комбинации Валюта × Имант – 6,4 % (сеянцы

№ 9-12-9, 9-12-30 и др.), гибридной комбинации Валюта × Академик Казаков – 9,1 % (сеянцы №6-12-23, 6-12-24 и др.) сеянцев при теоретической вероятности 12,5%.

Рецессивным гомозиготным состоянием обоих генов (генотип *rviбрvibrvi4rvi4*) в изучаемых комбинациях характеризовалось 6,5; 16,3; 9,7 и 4,5 % сеянцев соответственно.

Идентификация форм, сочетающих гомозиготность по гену *Rviб* с геном *Rvi4*, имеет важное практическое значение в селекции яблони на иммунитет к парше, позволяя при использовании их в качестве доноров целевых аллелей даже при скрещивании с формами, имеющими рецессивный гомозиготный генотип по обоим генам, получать до 50 % устойчивых к парше по двум генам сеянцев (генотип *Rviб+Rvi4*).

Заключение. Таким образом, на основании молекулярно-генетического анализа проведена оценка совместного наследования в гибридном потомстве яблони генов *Rviб* и *Rvi4* моногенной устойчивости к парше. Идентифицированы перспективные для селекции по данному признаку сеянцы, сочетающие ген *Rvi4* с геном *Rviб* в доминантном гомозиготном состоянии.

Литература

1. Khajuria, Y.P. Genetics of resistance in apple against *Venturia inaequalis* (Wint.) Ске. / 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. 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.
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. Roberts, A.L. Apple scab resistance from *Malus floribunda* 821 (*Vf*) is rendered ineffective by isolates of *Venturia inaequalis* from *Malus floribunda* / A.L. Roberts, I.R. Crute // Norw. J. Agr. Sci. Suppl., 1994. – V. 17. – P 403-406.

5. Parisi, L. Variability of the pathogenicity of *Venturia inaequalis* in Europe / L. Parisi, V. Fouillet, H.J. Schouten, R. Groenwold, F. Laurens, F. Didelot, K. Evans, C. Fischer, F. Genari, H. Kemp, M. Lateur, A. Patocchi, J. Thissen, C. Tsipouridis // *Acta Hort.*, 2004. – V. 663. – P. 107-114.
6. Beckerman, J. A 33-year evaluation of resistance and pathogenicity in the apple scab-crabapples pathosystem / J. Beckerman // *Hort. Sci.*, 2009. – V. 44. – P. 599-608.
7. 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.
8. Tartarini, S. Efficiency of marker assisted selection (MAS) for the *V_f* scab resistance gene / S. Tartarini, S. Sansavini, B. Vinatzer, C. Domizi // *Acta horticulturae*, 2000. – V. 538. – P. 549-552. Doi: 10.17660/ActaHortic.2000.538.96.
9. Dirlewanger, E. Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops / E. Dirlewanger, E. Graziano, T. Joobeur, et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004. – V. 101(26). – P. 9891-9896.
10. Soriano, J.M. Identification and mapping of the novel apple scab resistance gene *Vd3* / J.M. Soriano, S.G. Joshi, M. van Kaauwen, Y. Noordijk, R. Groenwold, B. Henken, W.E. van de Weg, H.J. Schouten // *Tree Genetics & Genomes*, 2009. – V. 5. – P. 475-482.
11. Ускоренное создание сортов яблони с иммунитетом к парше / Е.В. Ульяновская [и др.] // *Труды Кубанского государственного аграрного университета*, 2018. № 73. С. 218-222.
12. 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.
13. 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.
14. DArT, 2014 URL: http://www.diversityarrays.com/sites/default/files/resources/DArT_DNA_isolation.pdf (дата обращения: 10.07.2018).
15. 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.
16. Gessler, C. *Venturia inaequalis* resistance in apple / C. Gessler, A. Patocchi, S. Sansavini, S. Tartarini, L. Gianfranceschi // *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2006. – V. 25(6). – P. 473-503. Doi: 10.1080/07352680601015975.
17. Лыжин А.С., Савельева Н.Н. Идентификация генов устойчивости к парше у сортов и гибридных форм яблони с использованием молекулярных маркеров [Электронный ресурс] // *Плодоводство и виноградарство Юга России*, 2018. № 53(5). С. 1-14. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/18/05/01.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2018-5-53-1-14.

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. 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.

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. Roberts, A.L. Apple scab resistance from *Malus floribunda* 821 (*Vf*) is rendered ineffective by isolates of *Venturia inaequalis* from *Malus floribunda* / A.L. Roberts, I.R. Crute // *Norw. J. Agr. Sci. Suppl.*, 1994. – V. 17. – P 403-406.
5. Parisi, L. Variability of the pathogenicity of *Venturia inaequalis* in Europe / L. Parisi, V. Fouillet, H.J. Schouten, R. Groenwold, F. Laurens, F. Didelot, K. Evans, C. Fischer, F. Gennari, H. Kemp, M. Lateur, A. Patocchi, J. Thissen, C. Tsipouridis // *Acta Hort.*, 2004. – V. 663. – P. 107-114.
6. Beckerman, J. A 33-year evaluation of resistance and pathogenicity in the apple scab-crabapples pathosystem / J. Beckerman // *Hort. Sci.*, 2009. – V. 44. – P. 599-608.
7. 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.
8. Tartarini, S. Efficiency of marker assisted selection (MAS) for the *Vf* scab resistance gene / S. Tartarini, S. Sansavini, B. Vinatzer, C. Domizi // *Acta horticulturae*, 2000. – V. 538. – P. 549-552. Doi: 10.17660/ActaHortic.2000.538.96.
9. Dirlewanger, E. Comparative mapping and marker-assisted selection in Rosaceae fruit crops / E. Dirlewanger, E. Graziano, T. Joobeur, et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004. – V. 101(26). – P. 9891-9896.
10. Soriano, J.M. Identification and mapping of the novel apple scab resistance gene *Vd3* / J.M. Soriano, S.G. Joshi, M. van Kaauwen, Y. Noordijk, R. Groenwold, B. Henken, W.E. van de Weg, H.J. Schouten // *Tree Genetics & Genomes*, 2009. – V. 5. – P. 475-482.
11. Uskorennoe sozdanie sortov yabloni s immunitetom k parshe / E.V. Ul'yanovskaya [i dr.] // *Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2018. № 73. S. 218-222.
12. 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.
13. 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.
14. DArT, 2014 URL: http://www.diversityarrays.com/sites/default/files/resources/DArT_DNA_isolation.pdf (data obrashcheniya: 10.07.2018).
15. 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.
16. Gessler, C. *Venturia inaequalis* resistance in apple / C. Gessler, A. Patocchi, S. Sansavini, S. Tartarini, L. Gianfranceschi // *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2006. – V. 25(6). – P. 473-503. Doi: 10.1080/07352680601015975.
17. Lyzhin A.S., Savel'eva N.N. Identifikaciya genov ustojchivosti k parshe u sortov i gibridnyh form yabloni s ispol'zovaniem molekulyarnyh markerov [Elektronnyj resurs] // *Plodovodstvo i vinogradarstvo Yuga Rossii*, 2018. № 53(5). S. 1-14. URL: <http://journalkubansad.ru/pdf/18/05/01.pdf>. DOI: 10.30679/2219-5335-2018-5-53-1-14.